

Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2005

Е. В. Компанцева, А. В. Халата, Л. П. Овчаренко,
Л. Н. Дуккардт, Н. В. Благоразумная

АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА, СОДЕРЖАЩЕГО ИЗОНИАЗИД И ПИРИДОКСИНА ГИДРОХЛОРИД В ВИДЕ ГРАНУЛ

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Предложена лекарственная форма — гранулы, содержащая изониазид и пиридоксина гидрохлорид по 0,150 и 0,015 в 1 г гранул (соответственно). Разработаны методики качественного и количественного анализа лекарственной формы методом ВЭЖХ. Хроматографирование проводили на приборе Миллихром-2 с УФ-детектором и колонкой КАХ 4-64-3, заполненной сорбентом Separon C₁₈, в качестве подвижной фазы используют ацетонитрил — 0,5 % раствор дигидрофосфата натрия (60:40), ортофосфорная кислота до рН 2,5 – 3,0. Скорость подачи элюента 50 мкл/мин. Детектирование осуществляли при 280 нм. Относительная погрешность определения изониазида не превышает ± 1,1 %, а пиридоксина гидрохлорида ± 4,1 %.

В настоящее время основным лекарственным веществом, применяемым в терапии туберкулеза, является изониазид, длительное применение которого может вызвать побочные явления, проявляющиеся в виде нейротоксичных реакций — развитие психоза, возникновение периферических невритов и т.п. Назначение пиридоксина гидрохлорида в период лечения изониазидом различных форм туберкулеза уменьшает эти побочные явления [1, 2].

В настоящее время Российской фармацевтической промышленностью комбинированные лекарственные формы изониазида с пиридоксина гидрохлоридом не выпускаются [3]. Однако на Российский фармацевтический рынок поступают таблетки “Изонид” (Germany FATOL ARXNEITTEL GmbH), в состав которых входят изониазид 300 мг, пиридоксина гидрохлорид 30 мг.

Применение лекарственных форм в виде гранул, пеллет или других микрочастиц имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными твердыми дозированными формами в виде таблеток. При этом наблюдается однородное распределение действующего вещества в желудочно-кишечном тракте, что позволяет снизить риск токсического действия лекарственных веществ [4, 5].

Таким образом, представлялось актуальным разработать лекарственную форму изониазида с пиридоксина гидрохлоридом в виде гранул. Пятигорской государственной фармацевтической академией и Тюменским ХФЗ разработана технология гранул изониазида и пиридоксина гидрохлорида.

Целью настоящего исследования являлась стандартизация лекарственного препарата изониазида и пиридоксина гидрохлорида в виде гранул.

Экспериментальная часть

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали гранулы изониазида и пиридоксина гидрохлорид, состава: изониазида 0,30 г, пиридоксина гидрохлорида 0,03 г, сахара-рафинада 1,50 г, сахарина до 2,00.

Время распадаемости, прочность гранул на истирание определяли по ГФ XI, вып. 2; фракционный состав — на наборе сит со стандартной шкалой сеток. Время просеивания — 5 минут. Анализ подлинности и количественного содержания изониазида и пиридоксина гидрохлорида проводили методом ВЭЖХ.

Хроматографирование проводили на приборе Миллихром-2 с УФ-детектором и колонкой КАХ 4-64-3, заполненной сорбентом Separon C₁₈, скорость подачи элюента 50 мкл/мин. Детектирование осуществляли при 280 нм.

Результаты и их обсуждение

Гранулы представляли собой белые или с желтоватым оттенком частички неправильной формы и обладали нужной механической прочностью. При растворении 2,0 г гранул в 100 мл воды очищенной получали прозрачный, бесцветный раствор.

Для анализа ингредиентов лекарственной формы был использован метод ВЭЖХ.

Предварительно нами были подобраны условия хроматографирования: элюент, значение рН среды. Критерием оптимизации служил коэффициент разделения пиков изониазида и пиридоксина гидрохлорида.

При выборе подвижной фазы исходили из того, что молекулы изониазида и пиридоксина гидрохлорида не имеют неполярных фрагментов и будут незначительно

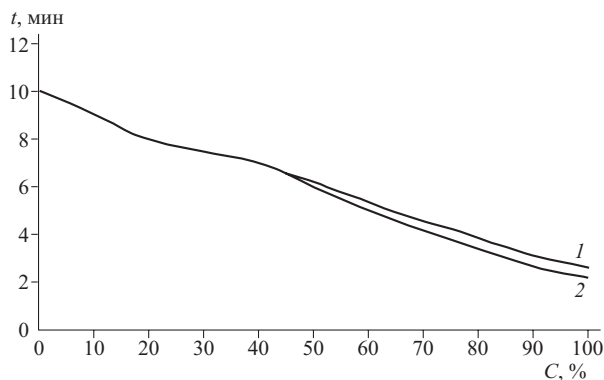


Рис. 1. Влияние концентрации ацетонитрила на время удерживания изониазида (1) и пиридоксина гидрохлорида (2)

“прижиматься” к гидрофобной поверхности сорбента, так как могут активно образовываться водородные связи с полярными компонентами подвижной фазы, поэтому нами в качестве подвижной фазы были использованы водные смеси ацетонитрила [6, 7]. Предварительно было изучено элюирование пиридоксина гидрохлорида и изониазида с использованием подвижных фаз с содержанием ацетонитрила от 5 до 100 % (рис. 1).

Как следует из представленных результатов, время удерживания изониазида и пиридоксина гидрохлорида совпадают при содержании ацетонитрила в подвижной фазе в количестве до 50 %. При дальнейшем увеличении содержания ацетонитрила времена удерживания ингредиентов различаются, и на хроматограмме наблюдается два пика. Пиридоксина гидрохлорид, как более полярное вещество, элюируется раньше изониазида. Однако при использовании этой подвижной фазы полного разделения пиков достигнуто не было. Это можно объяснить одновременным присутствием в испытуемых пробах лекарственных веществ в ионизированной и молекулярной формах, которые имеют различные полосы поглощения в УФ-области спектра. Согласно литературным данным рК изониазида — 4,65, а пиридоксина гидрохлорида — 4,9. Следовательно, оптимальное значение рН-среды, при котором в растворе будут находиться до 95 % ионизированные формы, подвижной фазы должно быть 2,5 – 3,0, поэтому к ацетонитрилу добавляли фосфатный буферный

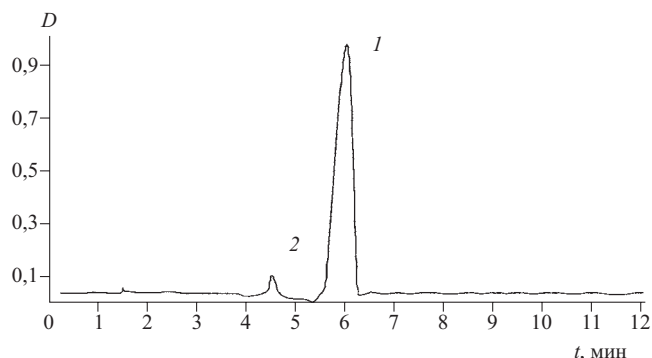


Рис. 2. Хроматограмма модельной смеси изониазида (1) с пиридоксина гидрохлоридом (2)

раствор и ортофосфорную кислоту до нужного значения рН.

В результате серии экспериментов подобрали оптимальный состав подвижной фазы, состоящей из ацетонитрила, 0,5 % раствора дигидрофосфата натрия (60:40) и ортофосфорной кислоты до рН 2,5 – 3,0.

Для идентификации изониазида и пиридоксина гидрохлорида в выбранных условиях хроматографировали пробу раствора гранул (приготовленную по методике, описанной ниже) и растворов РСО изониазида и пиридоксина гидрохлорида. Времена удерживания ингредиентов гранул и раствора соответствующего РСО должны быть идентичны.

Определение количественного содержания изониазида и пиридоксина гидрохлорида в гранулах проводили по следующей методике.

Точную массу гранул (около 0,6 г) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют в 50 мл воды, после полного растворения гранул объем раствора доводят до метки тем же растворителем. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр “Синяя лента”, первые 15 – 20 мл фильтрата отбрасывают. 1 мл фильтрата переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем водой до метки (раствор Б). 5 мкл полученного раствора хроматографируют на приборе Милихром-2 с УФ-детектором и колонкой КАХ 4-64-3, заполненной сорбентом Separon C₁₈, в качестве подвижной фазы используют ацетонитрил — 0,5 % раствор дигидрофосфата натрия (60:40), ортофосфорная кислота до рН 2,5 – 3,0. Скорость подачи элюента 50 мкл/мин. Длина волны детектирования — 280 нм.

После прохождения через колонку 700 мкл подвижной фазы в тех же условиях хроматографируют по 5 мкл раствора РСО изониазида и пиридоксина гидрохлорида.

Содержание изониазида и пиридоксина гидрохлорида в 1 г гранул рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S \cdot a_{\text{ст}} \cdot 100 \cdot 1,0 \cdot 100}{S_{\text{ст}} \cdot a \cdot 100 \cdot 100 \cdot 1,0} = \frac{S \cdot a_{\text{ст}}}{S_{\text{ст}} \cdot a}$$

где: S — площадь пика изониазида (пиридоксина гидрохлорида) испытуемого раствора, мм²; $S_{\text{ст}}$ — пло-

Таблица 1
Результаты оценки хроматографической системы

Показатели	Определяемое вещество	
	izoniazid	piridoksin
Отклонение от среднего времени удерживания, %	3,10	3,70
Стандартное отклонение, %	1,50	4,60
Селективность колонки	1,35	
Коэффициент разделения пиков	1,60	
Число теоретических тарелок	1248	4986

Результаты определения изониазида и пиридоксина гидрохлорида в гранулах

Навеска гранул, г	S пика изониазида, мм ²	Найдено изониазида в 1 г гранул	Метрологические характеристики	S пика пиридоксина гидрохлорида, мм ²	Найдено пиридоксина гидрохлорида в 1 г гранул	Метрологические характеристики
0,6612	331	0,1536	$\bar{X} = 0,1507$	29,8	0,0161	$\bar{X} = 0,0151$
0,6579	321	0,1497	$S = 0,00175$	27,4	0,0149	$S = 0,0006$
0,6621	322	0,1492	$S_{\bar{X}} = 0,00072$	28,5	0,0154	$S_{\bar{X}} = 0,00024$
0,6595	321	0,1492	$\Delta_{\bar{X}} = 0,000183$	27,2	0,0146	$\Delta_{\bar{X}} = 0,00062$
0,6624	328	0,1519	$\varepsilon_{\alpha} = \pm 1,1 \%$	28,0	0,0151	$\varepsilon_{\alpha} = \pm 4,1 \%$
0,6598	324	0,1505		27,0	0,0145	
	$S_{\text{ст}} = 326,0$			$S_{\text{ст}} = 28,0$		

щадь пика РСО изониазида (пиридоксина гидрохлорида), мм².

На рис. 2 представлена хроматограмма разделения модельной смеси гранул изониазида и пиридоксина гидрохлорида.

Хроматографическую систему оценивали по следующим критериям:

— время удерживания изониазида и пиридоксина гидрохлорида не должно отклоняться более чем на 5 и 10 % от среднего результата;

— стандартное отклонение, рассчитанное по площадям пиков РСО изониазида и пиридоксина гидрохлорида при 5 вводах, не должно быть более 5 %;

— селективность колонки не менее 0,5;

— коэффициент разделения (разрешения) пиков изониазида и пиридоксина гидрохлорида не менее 1;

— число теоретических тарелок для основного вещества не менее 3000.

Результаты определения пригодности хроматографической системы представлены в табл. 1.

В табл. 2 приведены результаты количественного определения изониазида и пиридоксина гидрохлорида в препарате по разработанной методике.

Относительная погрешность определения изониазида не превышает $\pm 1,1 \%$, а пиридоксина гидрохлорида — $\pm 4,1 \%$.

Таким образом, в результате проведенных исследований разработаны технология и методики анализа новой комбинированной лекарственной формы изониазида с пиридоксина гидрохлоридом.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Визель, М. Э. Гурылева, *Туберкулез*, Медицина, Москва, ГЭОТАР (1999), сс. 84 – 89.
2. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, ч. II, “Торсинг”, Харьков (1998), сс. 331 – 334.
3. *Государственный реестр лекарственных средств*, Москва (2000), с. 424.
4. R. Bodmeier, *Eur. J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **43**(1), 1 – 8 (1997).
5. С. И. Золотухин, Л. Ф. Виноградова, Л. М. Козлова и др., *Фармакол. и токсикол.*, **XLVI**(2), 88 – 92 (1983).
6. Я. И. Ясин, *Физико-химические основы хроматографического разделения*, Химия, Москва (1976), сс. 10 – 20.
7. В. Д. Шатц, *Высокоэффективная жидкостная хроматография*, Зинатне, Рига (1988), сс. 15 – 35.

Поступила 18.10.04

HPLC ANALYSIS OF A NEW GRANULATED PREPARATION CONTAINING ISONIAZID AND PYRIDOXINE HYDROCHLORIDE

E. V. Kompantseva, A. V. Khalata, L. P. Ovcharenko, L. N. Dukkardt, L. N. Dukkardt, N. V. Blagorazumnaya, and L. M. Grakhantseva

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy, Pyatigorsk, Russia

A new ready-to-use medicinal form – granules containing isoniazid and pyridoxine hydrochloride (0.15 and 0.015 g per gram of granules, respectively) is proposed. HPLC techniques for the qualitative and quantitative analysis of the new preparation have been developed. The analyses are carried out using a Millihrom-2 chromatograph equipped with a UV detector and a KAKh 4-64-3 column filled with Separon C18. The column is eluted with an acetonitrile – 0.5% aqueous sodium dihydrophosphate solution (60:40, adjusted with orthophosphoric acid at pH 2.5 – 3.0) at a flow rate of 50 $\mu\text{l}/\text{min}$. The detection is carried out at 280 nm. The relative error of determination does not exceed $\pm 1.1\%$ for isoniazid and $\pm 4.1\%$ for pyridoxine hydrochloride.