

ФАРМАЦИЯ PHARMACIA

Том/Volume LV

2008

Книжка/Number 1-4

СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО ФАРМАЦИЯ

Главен редактор: Ст. Николов

Секретар: Ал. Златков

Редакционна колегия:

Зл. Димитрова, Св. Богданова, И. Иванов, Г. Китанов, И. Йонкова, Н. Данчев, Г. Петрова,
Д. Обрешкова, Ст. Титева, И. Костадинова, Ф. Клерфьой, Е. Х. Хансен,
М. Шефер, Р. Грьонинг, Л. Пистели, М. Унзета

JOURNAL OF THE BULGARIAN PHARMACEUTICAL SCIENTIFIC SOCIETY

Editor in Chief: St. Nikolov

Assistant Editor: Al. Zlatkov

Editorial Board:

Zl. Dimitrova, Sv. Bogdanova, I. Ivanov, G. Kitanov, I. Jonkova, N. Danchev, G. Petrova, D. Obreshkova,
St. Titeva, I. Kostadinova, F. Clerfeuille, E. H. Hansen, M. Schaefer,
R. Gröning, L. Pistelli, M. Unzeta

Адрес на редакцията

Фармацевтичен факултет
ул. "Дунав" 2, София 1000
Факс (02) 987 987 4

Гл. редактор: ☎ (02) 987 987 4
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

Address of Editorial Board

Faculty of Pharmacy
2, Dunav str., Sofia 1000
Fax (02) 987 987 4

Editor in Chief: ☎ (+359 2) 987 987 4
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

СЪДЪРЖАНИЕ

Оригинални статии

<i>Трайков, А. Бижев и Д. Янева.</i> Понататъшни изпитания на новосинтезирани противовъзпалителни пиролови производни: ROS образуване в липозомна моделна система <i>in vitro</i>	3
<i>Ив. Пенчева, Д. Обрешкова и Д. Цветкова.</i> Аналитично изследване на синтетичния пиретроид флуметрин – УВ спектрофотометрично и ВЕТХ определяне във ветеринарни лекарства.....	7
<i>В. Бърдаров, Т. Зиколова, Н. Радоевска и А. Сахтура.</i> Количествен анализ на Piracetam и Cinnarizine в комбинирана лекарствена форма.....	14
<i>И. Йонкова, И. Антонова и Г. Момеков.</i> Арилтетралинови лигнани от <i>in vitro</i> култури на <i>Linum elegans</i> и тяхната цитотоксична активност.....	18
<i>И. Йонкова, Ст. Нинов, И. Антонова, Д. Моянкова, Т. Георгиев и Д. Джелянов.</i> DPPH радикал-свързваща активност на <i>in vitro</i> регенерирани растения <i>Haberlea rhodopensis friv. Plants</i>	22
<i>К. Йончева и Х. М. Ираче.</i> Колориметрично определяне на муцинови дисперсии и приложение на метода за оценка на биоадхезивните свойства на пегилирани наночастици.....	26
<i>Е. Джамбазова, Х. Ночева и А. Бочева.</i> Аналгетични ефекти на някои новосинтезирани аналози на но-цицептин при плъхове.....	30
<i>М. Кондева-Бурдина, С. Денева и М. Мичева.</i> Промени в активността на някои лекарствометаболизиращи ензимни системи и количеството на цитохром P450 след многократно прилагане на Fluoxetine при плъхове.....	34

Обзори

<i>М. Караиванова, Г. Момеков и А. Костовски.</i> Ангиогенеза и насоки за създаване на антиангиогенни лекарства.....	38
<i>И. Динева и С. Константинов.</i> Новости в лекарственото лечение на карцином на млечната жлеза.....	45
<i>К. Тодорова, Зл. Димитрова, М. Стефанова и С. Захариева.</i> Фармакоикономически анализ на лечението на захарния диабет през бременността.....	56
<i>Д. Димитров, Е. Милев, М. Георгиева и Ст. Георгиев.</i> Българската народна медицина.....	61

Информационен отдел	67
----------------------------------	----

CONTENTS

Original articles

<i>L. Traikov, A. Bijev and D. Yaneva.</i> Further evaluation of newly synthesized anti-inflammatory pyrrole derivatives: ROS formation in liposome model system <i>in vitro</i>	3
<i>Iv. Pencheva, D. Obreshkova and D. Tsvetkova.</i> Analytical study of synthetic pyrethroid flumethrin – UV-spectrophotometric and HPLC determination in veterinary drugs.....	7
<i>V. Bardarov, T. Zikolova, N. Radoevska and A. Sahtura.</i> Quantitation of piracetam and cinnarizine in a combined medicinal product.....	14
<i>I. Ionkova, I. Antonova and G. Momekov.</i> Aryltetralin lignans from <i>in vitro</i> cultures of <i>Linum elegans</i> and their cytotoxic activity.....	18
<i>I. Ionkova, St. Ninov, I. Antonova, D. Moyankova, T. Georgieva and D. Djilianov.</i> DPPH radical scavenging activity of <i>in vitro</i> regenerated haberlea rhodopensis Friv. Plants.....	22
<i>K. Yoncheva and J. M. Irache.</i> Colorimetric determination of mucin dispersions and its application for bioadhesive evaluation of pegylated nanoparticles.....	26
<i>E. Dzhambazova, H. Nocheva and A. Bocheva.</i> Analgesic effects of some newly synthesized nociceptin analogues in rats.....	30
<i>M. Kondeva-Burdina, S. Deneva And M. Mitcheva.</i> Changes in the activity of some drug metabolizing enzyme systems and cytochrome P450 quantity after multiple Fluoxetine administration in rats.....	34

Reviews

<i>M. Karaivanova, G. Momekov and A. Kostovsky.</i> Angiogenesis and trends for discovery of antiangiogenic drugs.....	38
<i>I. Dineva and S. Konstantinov.</i> Advances in the drug therapy of breast cancer.....	45
<i>K. Todorova, Zl. Dimitrova, M. Stefanova and S. Zaharieva.</i> Pharmaco-economical analysis of diabetes treatment during pregnancy.....	56
<i>D. Dimitrov, E. Milev, M. Georgieva and St. Georgiev.</i> Bulgarian traditional medicine.....	61

Informasion section	70
----------------------------------	----

ФАРМАЦИЯ 1-4/2008

ISSN 0428-0296

УДК 615

Организационен секретар и стил редактор *Св. Цветанова*
Корекция *Св. Цветанова*
Терминологичен и семантичен контрол *д-р Б. Станчева*
Форматиране *О. Маркова*

Подписана за печат на 25.03.2009 г.

Печатни коли 9, формат 60 x 90/8

Централна медицинска библиотека
1431 София, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, тел. 952-16-45, Fax: 851 82 65
e-mail: svetlamu@mail.bg

КОЛИЧЕСТВЕН АНАЛИЗ НА PIRACETAM И CINNARIZINE В КОМБИНИРАНА ЛЕКАРСТВЕНА ФОРМА

В. Бърдаров¹, Т. Зиколова², Н. Радоевска² и А. Сахтура²

¹Токсикохимична лаборатория, Военномедицинска академия – София

²Адифарм – София

Резюме. Разработен е течнохроматографски метод за количествен анализ на Piracetam и Cinnarizine, активните вещества в комбинирана лекарствена форма – твърди капсули. Методът е валидиран и позволява последователно определяне на двете съставки. Той е включен в документация за регистрация и е приложен за рутинен контрол на количественото съдържание на активните съставки на изследвания лекарствен продукт.

Ключови думи: Piracetam, Cinnarizine, количествен анализ, ВЕТХ

QUANTITATION OF PIRACETAM AND CINNARIZINE IN A COMBINED MEDICINAL PRODUCT

V. Bardarov¹, T. Zikolova², N. Radoevska² and A. Shtura²

¹Toxicochemical laboratory, Militari Medical Academy – Sofia

²Adipharm – Sofia

Summary. A liquid chromatographic method for assay of Piracetam and Cinnarizine, active substances in a conventional drug form – hard capsules, is elaborated. The method is validated and has been optimized for a consecutive quantitation of these substances. This method is included in MA documentation. It can be applied for routine analysis of the active substances piracetam and cinnarizine in the investigated drug product.

Key words: piracetam, cinnarizine, analysis, HPLC

Въведение

Piracetam и Cinnarizine (фиг. 1) са активните вещества на комбинирана лекарствена форма – твърди капсули. Разработването на технологията за такъв продукт, както и методите за охарактеризиране му, са извършени в отдел “Изследване и развитие” на Адифарм ЕАД.

Лекарственият продукт е съществено подобен на добре известния Phezam capsules и е предназначен за подобряване на мозъчното кръвообращение и мозъчния метаболизъм.

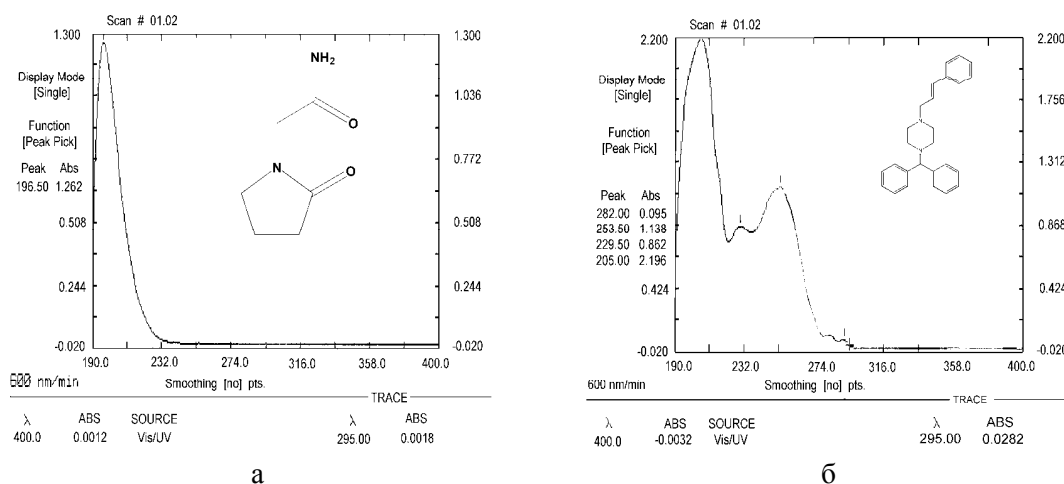
Piracetam [2-(2-Охоругтролидин-1-ил)] и Cinnarizine [(E)-1-(Difenylmethyl)-4-(3-phenylprop-2-enyl)-piperazine] се различават значително по разтворимост и оптични свойства (фиг. 1а), съответно по възможните условия за течнохроматографски анализ на всяко от тях. Разтворимостта на Piracetam във вода е много висока в широк интервал на киселинност на средата и има оптична абсорбция при ниски дължини на вълната (под 220 nm с максимум при 197 nm) (фиг. 1а). Cinnarizine е практически неразтворим във вода и разтваряне-

то му изисква водно-органична смес (съдържание на ацетонитрил $\geq 20\%$) и стойност на pH ≤ 2.5 . Има оптична абсорбция при ниски дължини на вълната, но и ивица на поглъщане при по-висока дължина на вълната с максимум при 254 nm (фиг. 1б).

Изпитването на различни системи за течнохроматографско разделяне на Piracetam и Cinnarizine показва, че тези съединения могат да бъдат разделени както чрез нормалнофазова, така и чрез обратнотазова хроматография.

Количествено определяне на Piracetam при нормално фазово разделяне е осъществено при използването на силикагелна колона и подвижна фаза ацетонитрил:вода (96:4). При същите условия, но при подвижна фаза ацетонитрил:вода (80:20) е анализиран и Cinnarizine. Установено е обаче, че при тези хроматографски условия се изисква продължително кондициониране на системата и пиковите на Piracetam и Cinnarizine са с лоша симетрия.

Търсенето на оптимално методично решение за анализ на Piracetam и Cinnarizine в комбинирана



Фиг. 1. Химична структура и абсорбционни спектри на разтвори на Piracetam (а) и Cinnarizine (б) с концентрация 20 $\mu\text{g/ml}$ в ацетонитрил/фосфатен буфер с рН = 2,5, сканирани на двулъчев спектрометър при дебелина на слоя 1 cm срещу разтворителя

ния лекарствен препарат чрез обратнофазово течнохроматографско разделяне и спектрофотометрична детекция показва възможност за използване на някои общи условия при определянето на двете съставки. Това прави процедурите при охарактеризиране на препаратите и на активните вещества по-рационални. Така например и двете вещества дават симетричен пик при използване на алкално дезактивирана обратнофазова (C8) колона с подвижна фаза смес от ацетонитрил и фосфатен буфер със стойност на рН 2,5, а детекцията при $\lambda = 210 \text{ nm}$ е подходяща както за количествен анализ на Piracetam и Cinnarizine, така и за определяне на техни сродни вещества.

Изследването на зависимостите на задържане на Piracetam и Cinnarizine от концентрацията на ацетонитрил и от киселинността на подвижната фаза при използване на колона Superspher 60 RP Select B са показани на фиг. 2.

С настоящата работа се предлага метод за последователно определяне на Piracetam и Cinnarizine с използване на обратнофазова високоефективна течна хроматография.

Хроматографските условия включват:

- обратнофазова колона с алкално дезактивирана неподвижна фаза;
- подвижни фази, приготвяни от фосфатен буфер с една и съща киселинност – рН 2,5;
- съдържание на ацетонитрил в подвижната фаза – 5% (при анализ на Piracetam) и 70% (при анализ на Cinnarizine)
- UV детекция при една и съща дължина на вълната ($\lambda = 210 \text{ nm}$), подходяща както за коли-

чествен анализ на двете съставки, така и за определяне на сродни вещества.

Материали и методи

Реактиви:

- ацетонитрил „за високоефективна течна хроматография“;
- калиев дихидрогенфосфат „за анализ“;
- ортофосфорна киселина „за анализ“;
- вода „за високоефективна течна хроматография“.

Сравнителни вещества:

- Piracetam, сравнително вещество, отговарящо на Ph. Eur.;
- Cinnarizine, сравнително вещество, отговарящо на Ph. Eur.

Апаратура:

- *течен хроматограф*: с UV детектор с възможност за работа при $\lambda = 210 \text{ nm}$ и програма за събиране и обработване на хроматографски данни;
- *колона*: от неръждаема стомана, обратнофазова (RP₈), алкално обработена, с дължина 250 mm, вътрешен диаметър 3÷5 mm и дисперзитет на неподвижната фаза 4÷5 μm . (Колона Superspher 60 RP Select B, 250 x 4 mm е подходяща);
- *pH-метър*: с точност $\pm 0,1$ рН единици;
- *разтвори за изпитване и сравнение*.

Хроматограми на Piracetam и Cinnarizine, получени при оптимизирани условия, са показани на фиг. 3 (а, б, в).

Както се вижда от хроматограмите на фиг. 3 (а, б), пикувете на двете вещества са с много добра симетрия и оптимално време на задържане.

На фиг. 3 (в) е показана и възможността за едновременно определяне на Piracetam и Cinnarizine при условията на градиентна хроматография по отношение на ацетонитрила в подвижната фаза. Градиентното определяне на Piracetam и Cinnarizine може да бъде използвано за едновременно количествено определяне и на двете вещества, но не е приложимо за определяне на сродни вещества поради появата на пикове от градиента на подвижната фаза. Този вариант е по-нерационален и поради други известни проблеми, които обикновено съпътстват течнхроматографския анализ с градиент на концентрацията на подвижната фаза.

Методиките за изократично определяне на Piracetam и Cinnarizine са валидирани съгласно изискванията на ICH Q2 (R1) Harmonised tripartite Guideline (Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology). Параметрите на валидиране, експерименталните условия и критериите за приемане са следните:

- *Специфичност* – установено е, че в хроматограми на плацебо не се появяват пикове с вре-

мена на задържане, близки до тези на Piracetam и Cinnarizine.

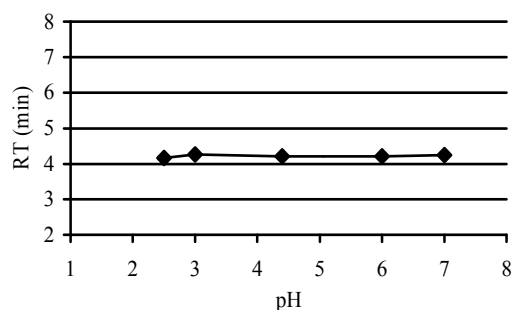
- *Линейност* на зависимостта между концентрацията (С) и площта на пиковете (А) в работния концентрационен интервал – установено е, че за Piracetam зависимостта е линейна в концентрационен интервал от 100 µg/ml до 300 µg/ml (коефициент на корелация $R^2 = 0,997$), а за Cinnarizine – от 5 µg/ml до 20 µg/ml (коефициент на корелация $R^2 = 0,999$).

- *Правилност* – данните за правилност на описания метод показват висока степен на възвръщане за Piracetam – 98,6%, – а за Cinnarizine – 98,2%.

- *Повторяемост, включително междулабораторна повторяемост* – данните за повторяемост, изразени като относително стандартно отклонение за двете активни вещества, са както следва: за Piracetam – 0,67%, а за Cinnarizine – 2,09%.

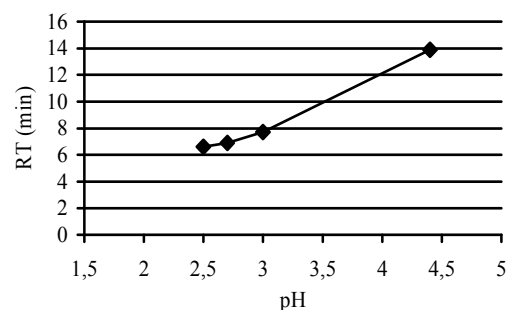
- *Стабилност на разтворите* – разтворите за сравнение на Piracetam и Cinnarizine са стабилни в продължение на 5 дни, съхранявани на тъмно в хладилник.

Зависимост на задържането на Piracetam за колона "Supershere RT Select-B 250 x 4 mm" и подвижна фаза ацетонитрил/буфер от киселинността на буфера



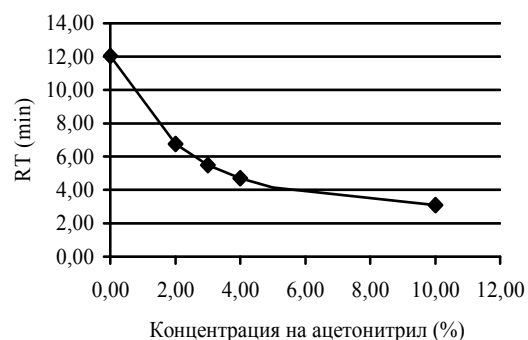
а

Зависимост на задържането на Cinnarizine за колона "Supershere RT Select-B 250 x 4 mm" и подвижна фаза ацетонитрил/буфер 70:30 от киселинността на буфера



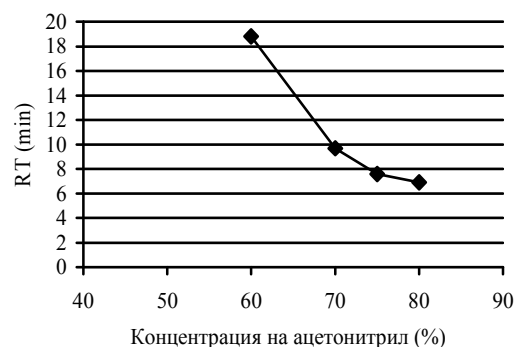
б

Зависимост на задържането на Piracetam за колона "Supershere RT Select-B 250 x 4 mm" и подвижна фаза ацетонитрил/буфер с pH = 2,5 от концентрацията на ацетонитрил



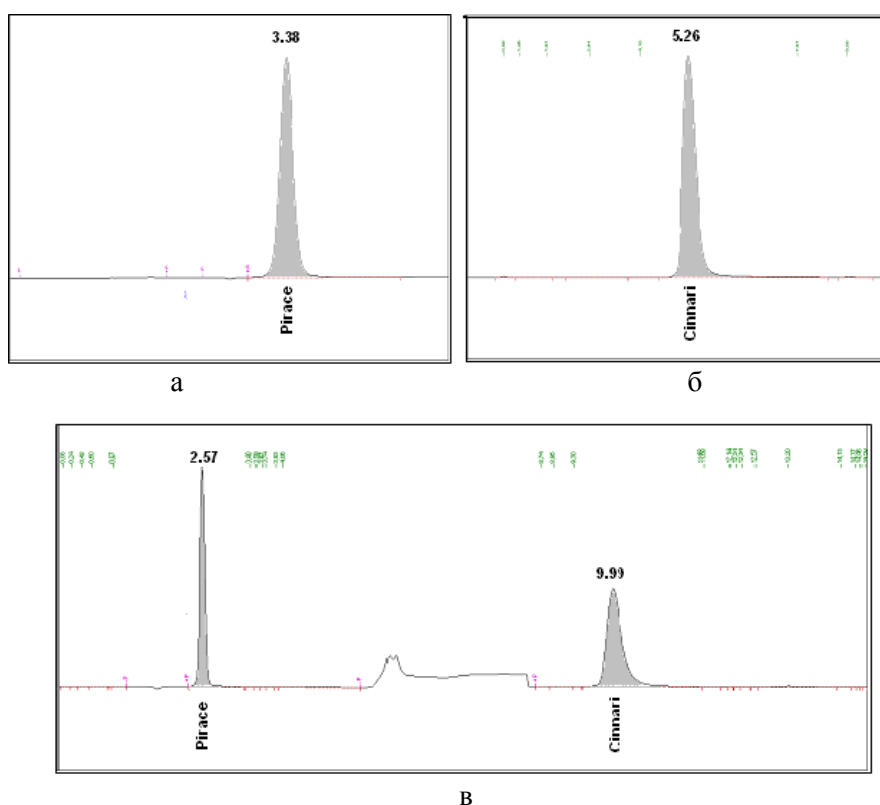
в

Зависимост на задържането на Cinnarizine за колона "Supershere RT Select-B 250 x 4 mm" и подвижна фаза ацетонитрил/буфер с pH = 2,5 от концентрацията на ацетонитрил



г

Фиг. 2. Оптимизиране на състава и киселинността на подвижната фаза в условията на течнхроматографски анализ на Piracetam и Cinnarizine



Фиг. 3. Хроматограми на Piracetam и Cinnarizine, получени на колона 250 x 4 mm "Supersphere RP Select-B"

- а) Piracetam в 0,05M фосфатен буфер с рН = 2,5" при подвижна фаза 5% ацетонитрил/95% фосфатен буфер 0,05M с рН 2,5 (1 ml/min) и UV детекция при $\lambda = 210$ nm;
 б) Cinnarizine в ацетонитрил при подвижна фаза 70% ацетонитрил/30% фосфатен буфер рН 2,5 (2 ml/min) и UV детекция при $\lambda = 210$ nm.
 в) Piracetam (50 μ g/ml) и Cinnarizine (50 μ g/ml) в ацетонитрил/0,05M фосфатен буфер с рН = 2,5 (20:80), получена при градиентно елуиране с подвижна фаза за 10 min, съдържаща съответни количества ацетонитрил/фосфатен буфер рН = 2,5, скорост на подвижната фаза от 1 до 2 ml/min и UV детекция при $\lambda = 210$ nm.

Изводи

Разработена и валидирана е методика за последователно количествено определяне на Piracetam и Cinnarizine.

Методиката е приложена за анализ на тези активни вещества в комбинирана лекарствена форма и е включена в *Документация за разрешаване за употреба*.

Методиката показва правилност и добра повторяемост на резултатите и е приложима за рутинен контрол.

Библиография

1. Piracetam. European Pharmacopoeia 6.0. pp 2697-2698.
2. Cinnarizine. European Pharmacopoeia 6.0. pp 1545-1547.

Постъпила – 18.09.2008 г.

✉ Адрес за кореспонденция:

В. Бърдаров
 Токсикохимична лаборатория
 Военномедицинска академия
 ул. „Св. Г. Софийски“ № 3
 1606 София

✉ Address for correspondence:

V. Bardarov
 Toxicological laboratory
 Military Medical Academy – Sofia
 3, Sv. G. Sofiyski, str.
 1606 Sofia