

*Тернопільський державний медичний університет  
імені І. Я. Горбачевського  
Національний фармацевтичний університет*

# **ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЧАСОПИС**

Науково-практичний журнал

---

---

**1(37)/2016**

---

---

*Ternopil State Medical University  
named after I. Ya. Horbachevsky  
National Pharmaceutical University*

## **PHARMACEUTICAL REVIEW**

Scientific-practical journal

Рекомендована д. фармац. наук, проф. В. В. Трохимчуком  
 УДК 547.792:543.544.5.068.7:[615.31:615.213]  
 DOI 10.11603/2312-0967.2016.1.6052

## ЩОДО СУМІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КАРБАМАЗЕПІНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ В МОДЕЛЬНІЙ СУМІШІ МЕТОДОМ ВЕРХ

### Повідомлення 1. Підбір фази для сумісного визначення карбамазепіну та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ

© Л. І. Кучеренко<sup>1,2</sup>, Г. Р. Німенко<sup>1,2</sup>, О. В. Ващенко<sup>1</sup>, В. В. Ващенко<sup>1</sup>

НВО «Фарматрон»<sup>1</sup>, Запоріжжя  
 Запорізький державний медичний університет<sup>2</sup>

**Резюме:** у результаті дослідження здійснено спробу вибору фаз для сумісного визначення тіотриазоліну та карбамазепіну методом ВЕРХ з використанням обернено-фазового варіанту хроматографування та елюентів різного складу. Встановлено, що одночасне визначення тіотриазоліну та карбамазепіну ускладнюється їхньою різною полярністю і розчинністю, внаслідок чого потребує застосування градієнтного елюювання.

**Ключові слова:** карбамазепін, тіотриазолін, модельна суміш, високоефективна рідинна хроматографія.

**Вступ.** У сучасному розумінні епілепсія – це хронічне захворювання головного мозку, єдиною або домінуючою ознакою якого є повторювані епілептичні напади. Кількість хворих на епілепсію на планеті становить 40–50 млн осіб, в Україні – близько 500 тис. Не менше одного нападу у житті переносять 5 % населення, у 20–30 % хворих епілепсія є довічною. В 1/3 випадків причина смерті хворих на епілепсію пов'язана з нападом або епілептичним статусом. Велика кількість різних форм епілепсії, різноманіття дій протисудомних препаратів, особливості їх ефектів при різних формах епілепсії створюють суттєві труднощі при виборі раціональної фармакотерапії. На основі напрацьованих експертами Міжнародної протиепілептичної ліги (МПЕЛ) стандартів і рекомендацій лікування основних форм фокальної епілепсії, препаратом першого вибору є карбамазепін (хімічна назва 5-карбоноіл-5Н-дібенз (b,f) азепін) [1, 2]. Карбамазепінові властиві побічні ефекти, які обмежують його застосування в клініці – гепатотоксичність, нефротоксичність, гастротоксичність, гематотоксичність, кардіотоксичність. Рішенням цієї проблеми стало створення нового більш ефективного протиепілептичного препарату, який проявляє виражені антидепресивні, ноотропні, нейропротективні та антиоксидантні властивості на основі фіксованої комбінації карбамазепіну з тіотриазоліном, що дозволило значно зменшити обсяг побічних ефектів [4, 5, 9]. Таким препаратом є карботріл (150 мг карбамазепіну, 100 мг тіотриазоліну), який проявляє більш виражені протиепілептичні, антидепресивні та анальгетичні властивості. Також проявляє нові фармакологічні властивості, що дозволяють розширити його застосування на відміну від

карбамазепіну та інших протисудомних засобів – антиоксидантна, нейропротективна, ноотропна, протиішемічна і актопротективна [2, 5].

Метою нашого дослідження є підбір елюентів для сумісного визначення вмісту карбамазепіну та тіотриазоліну в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

**Методи дослідження.** Для дослідження була виготовлена модельна суміш карбамазепіну і тіотриазоліну в співвідношенні 1,5:1 (тіотриазолін серія: 410609 виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» Національної академії наук України; карбамазепін серія: 130223342 виробник: «ZHEJIANG JIUNOU PHARMACEUTICAL CO, LTD» Китай).

Дослідження проводили з використанням модульної системи для ВЕРХ BISCHOFF (BISCHOFF Analysentechnik GmbH, Німеччина) зі спектрофотометричним детектором Lambda 1010. У роботі застосовували хроматографічні колонки Prontosil Eurobond C18 (250 x 4.6 mm, діаметр часток 5 мкм) і Hypersyl ODS (C-18) u5 (250 x 4.6 mm, діаметр часток 5 мкм). Елюювання здійснювали в ізократичному режимі, застосовуючи як рухому фазу такі суміші: 50 % метанол – 50 % фосфатний буфер (pH 3); 50 % метанол – 50 % 0,01 М розчин (тетрабутиламоній гідросульфат) ТВАHS; 45 % метанол – 55 % 0,01 М розчин ТВАHS; 40 % метанол – 60 % 0,01 М розчин ТВАHS; швидкість елюювання 1 мл/хв, температура колонки 25 °С, довжина хвилі детектування 230 нм, об'єм проби – 20 мкл.

*Розчини для дослідження.*

Робочий розчин А: 0,015 г (точна наважка) карбамазепіну і 0,010 г (точна наважка) тіотриазоліну (або



0,025 г модельної суміші) вносили у мірну колбу місткістю 25 мл, розчиняли у метанолі та доводили метанолом до позначки.

Досліджуваний розчин В: 1 мл робочого розчину А переносили у мірну колбу місткістю 10 мл та доводили елюентом (в кожному окремому випадку відповідний) до мітки і перемішували.

Використовували свіжоприготовані розчини.

Хроматографували 20 мкл випробовуваного розчину В на рідинному хроматографі з УФ детектором, отримуючи не менше п'яти хроматограм.

**Результати й обговорення.** У складних випадках аналізу багатокомпонентних готових лікарських засобів доцільно застосовувати метод ВЕРХ [3, 6–8]. У підібраних оптимальних умовах він дозволяє одночасно здійснювати ідентифікацію і кількісне визначення. Тому з огляду на можливості і переваги даного методу та аналітико-хімічних властивостей молекул діючих речовин нового комбінованого лікарського засобу «Карботрил» було запропоновано застосувати саме цей метод.

У результаті дослідження встановлено, що одночасне визначення вмісту діючих речовин у модельній суміші тіотриазоліну і карбамазепіну ускладнюється:

1. Відмінністю в розчинності цих речовин: карбамазепін, на відміну від тіотриазоліну, не розчиняється у воді та, у свою чергу, легко розчиняється в спиртах.

2. Значною різницею у хроматографічній рухливості аналітів – дуже полярного тіотриазоліну і малополярного карбамазепіну.

З огляду на вищезазначене було зроблено припущення, що елюент для спільного визначення тіотриазоліну та карбамазепіну повинен містити більше метанолу (близько 50%) порівняно з елюентом для визначення тіотриазоліну (фосфатний буфер та метанол у співвідношенні 90:10), але було встановлено, що застосування таких елюентів дуже зменшують час утримування тіотриазоліну, що, в свою чергу, також ускладнює підбір умов визначення діючих речовин у модельній суміші.

При хроматографуванні модельної суміші карбамазепіну та тіотриазоліну з використанням як елюенту 50 % суміш метанолу і фосфатного буферу (0,68 г/л дигідрофосфату калію і фосфорна кислота (рН 3)) на колонці Prontosil Eurobond C-18 отримано хроматограму, зразок якої представлений у таблиці (пункт 1). Об'єм утримування тіотриазоліну у вказаних умовах становить близько 2,6 мл, тоді як для карбамазепіну – близько 12,8 мл. Коефіцієнт розділення піків дорівнює 11, симетрія піків відповідає вимогам ДФУ, але пік карбамазепіну розширений. Ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком карбамазепіну близько 3000 теоретичних тарілок.

У подальших дослідженнях поступово збільшували вміст метанолу від 50 до 80 % – для зменшення об'єму утримання карбамазепіну, але при цьому зменшувався об'єм утримання тіотриазоліну – отримували значення близькі до мертвого об'єму колонки, тому збільшувати кількість метанолу в елюенті є недоцільним.

У подальшому для збільшення об'єму утримування тіотриазоліну застосували хроматографування із використанням елюента, що містить 50 % метанолу і 50 % 0,01 М р-ну тетрабутиламоній гідросульфату (ТВАНС) на колонці Hypersyl ODS (C-18) u5), що дозволило незначно збільшити об'єм утримування тіотриазоліну – до 2,9 мл (п. 2, табл.). Об'єм утримування карбамазепіну в цих умовах – близько 7,5 мл. Коефіцієнт розділення піків дорівнює 6, вони характеризуються розмитістю на низхідній, що погіршує характеристики симетрії піку для кожної речовини. Ефективність хроматографічної колонки розрахована за піком карбамазепіну становила 4000 теоретичних тарілок.

Зменшення вмісту метанолу в елюенті до 45 і 40 % не позначилося позитивно на об'ємі утримування тіотриазоліну, але значно збільшило об'єм утримування карбамазепіну – 12 і 18 мл, відповідно, і погіршило форму піку, що є негативним для аналізу. При застосуванні 45 % метанолу в рухомій фазі коефіцієнт розділення піків дорівнював 10, при цьому піки мають на низхідній розширення – асиметричні, ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком карбамазепіну близько 3000 теоретичних тарілок (п. 3, табл.). В другому випадку, при застосуванні 40 % метанолу у складі рухомої фази, коефіцієнт розділення піків досягає 16, але піки асиметричні із розширенням на низхідній, а ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком карбамазепіну близько 3000 теоретичних тарілок (п. 4, табл.).

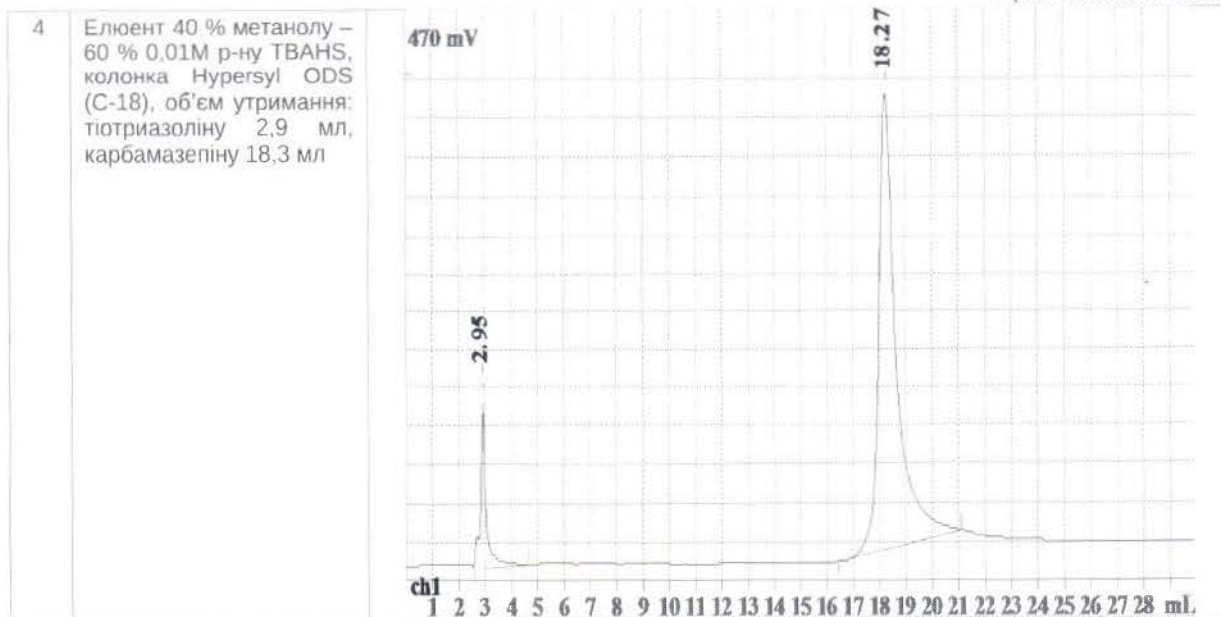
З огляду на вищезазначене ми вважаємо, що подальша розробка методики одночасного визначення тіотриазоліну і карбамазепіну в модельній суміші має передбачати градієнтне елюювання.

**Висновки.** У результаті дослідження було вивчено вплив складу рухомої фази на хроматографічні характеристики піків карбамазепіну та тіотриазоліну при спробі їх одночасного визначення методом ВЕРХ. Хроматографічні характеристики карбамазепіну та тіотриазоліну було досліджено на колонках Prontosil Eurobond C-18 iHypersyl ODS (C-18) із застосуванням сумішей метанолу і фосфатного та тетрабутиламоній гідросульфатного буферів. Встановлено, що одночасне визначення тіотриазоліну і карбамазепіну із запропонованими нерухомими і рухомими фазами неможливе в умовах ізократичного елюювання.

Таблиця. Результати хроматографування модельної суміші карбамазепіну з тіотриазоліном у різних умовах

з/п	Хроматографічні умови	Хроматограма
1	Елюент 50 % метанолу – 50 % фосфатний буфер (рН 3), колонка Prontosil Eurobond C-18, об'єм утримання: тіотриазоліну 2,6 мл, карбамазепіну 12,8 мл	<p>565 mV</p> <p>chl 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19ml</p>
2	Елюент 50 % метанолу – 50 % 0,01M р-ну ТВАНС, колонка Hypersyl ODS (C-18) u5, об'єм утримання: тіотриазоліну 2,9 мл, карбамазепіну 7,5 мл	<p>1136 mV</p> <p>chl 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 ml</p>
3	Елюент 45 % метанолу – 55 % 0,01M р-ну ТВАНС, колонка Hypersyl ODS (C-18), об'єм утримання: тіотриазоліну 2,96 мл, карбамазепіну 12,34 мл	<p>632 mV</p> <p>chl 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 ml</p>





#### Список літератури

- Бадалян О. Л. Влияние карбамазепина на структурно-функциональные связи в развитии эпилептической системы / О. Л. Бадалян, Л. Н. Неробкова, Т. А. Воронина [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол. – 2002. – 65, № 2. – С. 6–8.
- Бадалян О. Л. Влияние комбинированного применения карбамазепина и антиоксидантов на эпилептическую систему: автореф. дисс. канд. мед. наук. – М., 1998.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РИРЕГ, 2001. – Додовнення 1. – 2004. – 520 с.
- Мазур И. А. Тиотриазолин / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман // Запорожье, Львов: Наутилус, 2005. – 156 с.
- Пахомов В. П. Хроматография у хіміко-фармацевтичних дослідженнях / В. П. Пахомов // Хім. фармац. журн. – 2003 – Т. 37, № 8. – С. 55-56.
- EL, Johansen U, Christophersen AS. Drug screening of preserved oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Clin Chem. 2007;53:300–9.
- Георгиевский Г. В. Разработка комплекса физико-химических методик, обеспечивающих создание и контроль качества оригинальных отечественных препаратов, производных 1,2,4 – триазола / Г. В. Георгиевский // Запорожский медицинский журнал. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 58–69.
- Підбір оптимальних умов аналізу штучної суміші ізоніазиду та тиотриазоліну методом вискоєфективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, З. Б. Моряк, Г. І. Ткаченко // Запорож. мед. журн. – 2014. – № 2. – С. 118–120.
- Підвищення ефективності лікування епілепсії / Л. І. Кучеренко, І. Ф. Бєленічев, В. Й. Мамчур [та ін.]. – К., 2015. – 4 с. – (Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я / Укрмедпатентінформ; № 225-2015, Вип. 19 з проблеми «Фармація»).

#### ОТНОСИТЕЛЬНО СОВМЕСТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРБАМАЗЕПИНА И ТИОТРИАЗОЛИНА В МОДЕЛЬНОЙ СМЕСИ МЕТОДОМ ВЭЖХ

##### Сообщение 1. Подбор фазы для совместного определения карбамазепина и тиотриазолина в модельной смеси методом ВЭЖХ

Л. И. Кучеренко<sup>1,2</sup>, А. Р. Нименко<sup>1,2</sup>, Е. В. Ващенко<sup>1</sup>, В. В. Ващенко<sup>1</sup>

НПО «Фарматрон»<sup>1</sup>, Запорожье

Запорожский государственный медицинский университет<sup>2</sup>

**Резюме:** в результате исследования была предпринята попытка выбора фаз для совместного определения тиотриазолина и карбамазепина методом ВЭЖХ с использованием обратно-фазового варианта хроматографирования и элюентов различного состава. Установлено, что одновременное определение тиотриазолина и

карбамазепина осложняется их разной полярностью и растворимостью, в результате чего требует применения градиентного элюирования.

**Ключевые слова:** карбамазепин, тиотриазолин, модельная смесь, высокоэффективная жидкостная хроматография.

## CARBAMAZEPINE AND THIOTRIAZOLINE SIMULTANEOUS DEFINITION IN MODEL MIXTURE BY HPLC

**Message 1: phase selection for the simultaneous determination of carbamazepine and thiotriazolin in model mixture by high performance liquid chromatography**

L. I. Kucherenko<sup>1,2</sup>, H. R. Nimenko<sup>1,2</sup>, O. V. Vashchenko<sup>1</sup>, V. V. Vashchenko<sup>1</sup>

*Scientific-and-Production Corporation «Pharmatron»<sup>1</sup>  
Zaporizhian State Medical University<sup>2</sup>*

**Summary:** the study was an attempt to phase selection for the simultaneous definition of thiotriazoline and carbamazepine by HPLC using a reversed-phase chromatography and eluent of different composition. It was established that the simultaneous determination of thiotriazoline and carbamazepine is complicated by their different polarity and solubility therefore requires a gradient elution.

**Key words:** carbamazepine, thiotriazolin, modular mixture, high-performance liquid chromatography.

Отримано 11.02.2016