

МЕТОДЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА БЕТАКСОЛОЛА ГИДРОХЛОРИДА И ЛАТАНОПРОСТА

Е.Т. Жиликова, А.В. Агарина, О.О. Новиков, О.А. Кузьмичева, Д.К. Наплеков

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

В статье представлен обзор литературной информации и нормативной документации, описывающей методики качественного и количественного определения латанопроста, бетаксолола гидрохлорида, а также определения латанопроста в комбинированных офтальмологических лекарственных формах. Выявлено, что преобладающим методом идентификации бетаксолола гидрохлорида является ИК спектрофотометрия и реакция на хлориды. Для латанопроста применим метод ВЭЖХ и УФ спектрофотометрии. Обе субстанции количественно определяются преимущественно методами ВЭЖХ.

Ключевые слова: латанопрост, бетаксолол, фармацевтический анализ, ВЭЖХ, ТСХ.

DOI 10.19163/1994-9480-2018-3(67)-56-59

METHODS OF PHARMACEUTICAL ANALYSIS OF BETAXOLOL HYDROCHLORIDE AND LATANOPROST

E.T. Zhilyakova, A.V. Agarina, O.O. Novikov, O.A. Kuzmicheva, D.K. Naplekov

FSAEI HE «Belgorod State National Research University»

The article provides an overview of the literature information and normative documentation describing the methods for the qualitative and quantitative determination of latanoprost, betaxolol hydrochloride, as well as the determination of latanoprost in combined ophthalmic dosage forms. It was revealed that the predominant method of identifying betaxolol hydrochloride is IR spectrophotometry and reaction to chlorides. For latanoprost, we apply the HPLC method and UV spectrophotometry. Both substances are quantitatively determined primarily by HPLC.

Key words: latanoprost, betaxolol, pharmaceutical analysis, HPLC, TLC.

Непрерывным условием разработки нового состава и технологии лекарственных форм является разработка аналитического сопровождения на всех этапах создания лекарственного средства.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Характеристика методов анализа действующих веществ, входящих в состав лекарственной формы – лазерных капель антиглаукомного действия с бетаксололом гидрохлоридом и латанопростом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Бетаксолола гидрохлорид – белый кристаллический порошок. Используется как гипотензивное и противоглаукомное средство. Анализируя зарубежные современные фармакопеи и научную литературу, установили, что в качестве методов идентификации субстанции бетаксолола гидрохлорида Европейской Фармакопеей (EP 8.0) и Американской Фармакопеей (USP 38-NF 33) рекомендуется ИК спектрофотометрия (после смешения с бромидом калия, сравнение с СО) и качественная реакция на хлориды, возможно определение методом ТСХ, после просушки на воздухе определяется соответствие основного пятна СО и исследуемого образца либо в УФ-свете при длине волны 254 нм, либо в видимом свете после реакции с ванилином при подогреве) и определение точки плавления (113–117 °С) [5, 11]. Для определения бетаксолола гидрохлорида в офтальмо-

логических растворах Американская фармакопея 32 рекомендует метод ТСХ [11].

В работах Кокориной и др. показана возможность определения бетаксолола гидрохлорида методом ТСХ с использованием различных систем растворителей: эфир-ацетон-25% аммиак (40:20:1), толуол-изопропиловый эфир-25% аммиак (5:4:1), толуол-этанол-диэтиламин, хлороформ-ацетон (9:1), хлороформ-метанол (8,5–1,5), Н-бутанол-этанол-25% аммиак (5:1:1) и др. Разделение проводилось на пластинках «Сорбфил ПТСХ-А-УФ», просушивание осуществлялось на воздухе с последующим просмотром в видимом свете. Наиболее чувствительными хромогенными реактивами признаны: реактив, содержащий 0,3 М раствор меди сернокислой, подкисленный серной кислотой (через 1–2 мин обработка 0,3 М раствор калия йодида), реактив Драгендорфа и 0,1 н раствор йода. При использовании указанных реактивов бетаксолол определяется в виде пятна темно-серо-коричневого цвета, чувствительность метода достигает 1 мкг/мл.

Для количественного определения Европейская Фармакопея 8.0 рекомендует метод потенциометрической алкалометрии [5], а Американская фармакопея – метод ВЭЖХ с УФ детектором ($\gamma = 273$ нм). Современная Американская Фармакопея рекомендует идентификацию бетаксолола гидрохлорида в офтальмологических растворах проводить по времени удерживания и УФ спектру, а для количественного определения ВЭЖХ с УФ детектором или диодной матрицей ($\gamma = 280$ нм) [11].

Вислоуз и Бевз проводили определение бетаксолола гидрохлорида методом УФ спектрофотометрии, при использовании в качестве растворителя воды, субстанция имеет один пик при $\gamma = 274$ нм, а при использовании 0,1 М раствора соляной кислоты наблюдается три пика при длинах волн 221, 274 и 280 нм [1]. Suhagia, et al. описывают спектрофотометрический метод, предварительно получая окрашенный в желтый цвет комплекс (окисление натрия перйодатом), который анализируется при $\gamma = 450$ нм [10]. Описаны также способы определения бетаксолола с помощью метода ВЭЖХ. Так, Agawval, et al. приводят пример ОФ ВЭЖХ (колонка: Nucleosil C18, подвижная фаза: натрия гидрофосфат и метанол (40:60)), применяется градиентное элюирование с УФ детекцией при длине волны 220 нм [3].

На втором этапе работы изучены методы анализа латанопроста. Латанопрост – бесцветная или слегка желтоватая маслянистая жидкость. По химической структуре является изопропиловым эфиром, в роговице гидролизует в биологически активные кислоты. Используется в качестве противоглаукомного средства.

Для идентификации латанопроста Американская фармакопея рекомендует ИК спектроскопию (после суспендирования с хлоридом натрия или бромидом калия) и метод ВЭЖХ, а для количественного определения – ВЭЖХ с УФ детектором ($\gamma = 210$ нм, подвижная фаза – гексан и безводный спирт 94:6). Для идентификации и количественного определения в офтальмологических растворах – метод ВЭЖХ с УФ детектором [11]. Согласно литературным данным, также применим метод ВЭЖХ с УФ детектором с той лишь разницей, что в качестве подвижной фазы используется система ацетонитрил:вода (6:4) [9].

Harikrishna, et al. описывают методы ТСХ с применением силикагелевых пластинок, просмотр осуществляется в УФ лучах после проявления горячей смесью полифосфорной кислоты и пара-анизалядегида в этаноле [6].

Одним из современных методов идентификации соединений является сочетание ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС). Johnson et al. описывает метод применения ВЭЖХ-МС/МС на хроматографе Waters

2690, связанным с тандемным тройным квадрупольным масс-спектрометром, снабженным источником электрораспылительной ионизации. В качестве подвижной фазы используется система аммония ацетат-муравьиная кислота и аммония ацетат-изонитрил-вода (45:55). Образцы поддерживались в автосэмплере, установленном при 4 °С. Условия работы масс-спектрометра были следующими: нагретый капилляр до 175 °С, азот использовался в качестве газа оболочки и вспомогательного газа. Метод проводится с использованием перехода 450 > 337 при энергии столкновения -22 эВ [7].

В научной литературе представлено множество работ, посвященных одновременному определению компонентов офтальмологических лекарственных форм, содержащих в составе комбинацию латанопроста с β -адреноблокаторами и ингибиторами карбоангидразы. Так, Rele, et al. описан метод применения ОФ-ВЭЖХ для одновременного определения латанопроста и тимолола малеата в комбинированных лекарственных формах. Хроматографическое разделение компонентов достигается благодаря использованию колонки Waters Symmetry C18 и мобильной фазе, содержащей 0,05%-й водный раствор трифторуксусной кислоты и 0,05%-й раствор трифторуксусной кислоты в ацетонитриле (40:60). Применяется УФ детектор при длине волны 210 нм, разделение проводится менее чем за 8 минут [8].

Agarval, et al. предлагают для одновременного определения латанопроста и тимолола малеата метод ОФ-ВЭЖХ с фотодиодным детектированием. В качестве стационарной фазы выступает колонка Inertsil C18, в качестве мобильной фазы – ацетонитрил и вода (40:60) [3]. Walash M., Rania El-S описан метод быстрого разделения аналогов простагландинов (латанопрост), β -адреноблокаторов (тимолола малеат) и ингибиторов карбоангидразы (бримонидин) с использованием метода ВЭЖХ с УФ детектором при длине волны 210 нм. В качестве мобильной фазы применяется ацетонитрил и фосфатный буфер (50:50), рН 4.0. Разделение, согласно данным, занимает менее 6 минут [12].

Описанные методики анализа обобщены в табл.

Методы анализа бетаксолола гидрохлорида и латанопроста

| Наименование действующего вещества | Методы анализа | | |
|------------------------------------|---|---|---|
| | Европейская фармакопея (EP 8.0) [5] | Американская фармакопея (USP 38-NF 33) [11] | Литературные данные |
| Бетаксолола гидрохлорид | Идентификация | | |
| | 1. Определение температуры плавления 2. ИК спектрофотометрия 3. ТСХ 4. Качественная реакция на хлориды | <p><i>Для субстанции</i></p> 1. ИК спектроскопия 2. Качественная реакция на хлориды <p><i>Для офтальмологического раствора</i></p> 1. ВЭЖХ (УФ детектор) 2. Определение УФ спектра | УФ спектрофотометрия по собственному светопоглощению [1] или окрашенного комплекса [10] |
| | Количественное определение | | |
| Потенциометрическое титрование | ВЭЖХ с УФ детектором (или диодной матрицей – для офтальмологических растворов) | 1. УФ спектрофотометрия по собственному светопоглощению [1] или окрашенного комплекса [10] 2. ОФ ВЭЖХ (УФ детектор) [4] | |

| Наименование действующего вещества | Методы анализа | | |
|---|-------------------------------------|---|--|
| | Европейская фармакопея (EP 8.0) [5] | Американская фармакопея (USP 38-NF 33) [11] | Литературные данные |
| Латанопрост | Идентификация | | |
| | Не внесен | 1. ВЭЖХ (УФ детектор) | 1. ТСХ [6] |
| | | 2. УФ спектрофотометрия | 2. ВЭЖХ-МС/МС [7] |
| Количественное определение | | | |
| Не внесен | ВЭЖХ с УФ детектором | ВЭЖХ с УФ детектором [9] | |
| Комбинированные лекарственные формы: Латанопрост + Тимолола малеат | Количественное определение | | |
| | N/A | N/A | 1. ОФ-ВЭЖХ (УФ детектор) [8] 2. ОФ-ВЭЖХ (диодно-матричный детектор) [3] |
| Латанопрост + Тимолола малеат + Бримонидин | N/A | N/A | ВЭЖХ (УФ детектор) [12]. |

Из табл. следует, что в настоящее время известно достаточно методик идентификации и количественного определения бетаксолола гидрохлорида и латанопроста. Однако аналитическая база продолжает совершенствоваться, повышая точность, правильность и чувствительность методик.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном фрагменте исследования проведен обзор и характеристика методов идентификации и количественного определения бетаксолола гидрохлорида и латанопроста, базирующихся на фармакопейных требованиях и литературных данных. Для идентификации бетаксолола гидрохлорида преимущественно используются методы ТСХ, ИК-спектроскопии и реакция на хлориды. Для идентификации латанопроста – методы ВЭЖХ (с УФ или МС детектором). Для количественного определения обоих компонентов применяются различные вариации метода ВЭЖХ.

Известны способы одновременного разделения латанопроста в комбинации с тамолола малеатом и бримонидином (ВЭЖХ методы), но в литературных данных не найдено способа одновременного определения компонентов комбинированного состава, содержащего латанопрост и бетаксолол. Следовательно, актуальным является разработка методики разделения и количественного определения бетаксолола гидрохлорида и латанопроста, в комбинированной лекарственной форме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вислоуз О.О., Бевз Н.Ю. Разработка методики количественного определения бетаксолола // Современные достижения фармацевтической технологии: сборник: Материалы III научно-практической конференции с международным участием (21–23 сентября). – Х.: НФаУ, 2012. – С. 35–36.
2. Кокорина Н.О., Новоселов В.П., Ханина М.А. Идентификация β -адреноблокаторов хроматографическим методом // Фармация. – 2011. – № 7. – С. 12–14.

3. Agarwal A., Tiwari S., Nagariya K. Method development and its validation for quantitative simultaneous determination of latanoprost, timolol and benzalkonium chloride in ophthalmic solution by RP-HPLC // Journal of Drug Delivery & Therapeutics. – 2013. – № 3 (2). – P. 26–30.

4. Auvity S., Chiadmi F., Cisternino S. et al. Rapid stability-indicating RP-HPLC method for the determination of betaxolol hydrochloride in pharmaceutical tablets // Analytical chemistry insights. – 2013. – № 8. – P. 1–7. DOI:10.4137/ACI.S11256.

5. European Pharmacopoeia 8th edition [Электронный ресурс]. URL: <http://online.edqm.eu/entry.htm>.

6. Harikrishna M., Rama Mohan H., Dubey P.K. et al. Facile route for synthesis of structural analogs for latanoprost: an anti-glaucoma agent // Asian journal of chemistry. – 2011. – № 23 (7). – P. 3121–3126.

7. Johnson T.V., Gupta P.K., Vudathala D.K. et al. Thermal stability of bimatoprost, latanoprost, and travoprost under simulated daily use // Journal of ocular pharmacology and therapeutics. – 2011. – № 27 (1). – P. 51–59. DOI:10.1089/jop.2010.0115.

8. Rele R.V., Mhatre V.V., Parab J. M., C. B.Warkar. Simultaneous RP HPLC determination of latanoprost and timolol maleate in combined pharmaceutical dosage form // Journal of chemical and pharmaceutical research. – 2011. – № 3 (1). – P. 138–144.

9. Pratiksh P., Prabhanjan G., Priti P. Bioanalytical method development and validation for latanoprost quantification in pharmaceutical ophthalmic microemulsion formulation by RP-HPLC // Analytical and bioanalytical chemistry. – 2015. – № 6 (6). – P. 284.

10. Suhagia B.N., Shah S.A., Rathod I.S. et al. Spectrophotometric estimation of betaxolol hydrochloride in bulk powder and its dosage forms // Indian journal of pharmaceutical sciences. – 2006. – № 68 (2). P. 267–269.

11. The United States Pharmacopeia 38th edition [Электронный ресурс] // United States Pharmacopeial Convention. URL: <http://www.uspnf.com/uspnf/login>.

12. Walash M., Rania El-S. Fast separation and quantification of three antiglaucoma drugs by high-performance liquid chromatography UV detection // Journal of food and drug analysis. – 2016. P. 441–449.

REFERENCES

1. Vislouz O.O., Bevz N.Ju. Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredelenija betaxsolola [Development of betaxolol determination method]. In *Sovremennye dostizhenija farmacevitcheskoj tehnologii: sbornik: Materialy III nauchno-praktieskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem (21–23 sentjabrja)* [Modern achievements of pharmaceutical technology: a compilation: Materials of the III scientific and practical conference with international participation (September 21–23)]. Kharkiv: NPAU, 2012. P. 35–36. (In Russ.; abstr. in Engl.)
2. Kokorina N.O., Novoselov V.P., Hanina M.A. Identifikacija β -adrenoblokatorov hromatograficheskim metodom [Chromatografic method of β -blockers determination]. *Farmacija* [Pharmacy], 2011, no. 7, pp. 12–14. (In Russ.; abstr. in Engl.)
3. Agarwal A., Tiwari S., Nagariya K. Method development and its validation for quantitative simultaneous determination of latanoprost, timolol and benzalkonium chloride in ophthalmic solution by RP–HPLC. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 2013, no. 3 (2), pp. 26–30.
4. Auvity S., Chiadmi F., Cisternino S. et al. Rapid stability-indicating RP-HPLC method for the determination of betaxolol hydrochloride in pharmaceutical tablets. *Analytical chemistry insights*, 2013, no. 8, pp. 1–7. DOI:10.4137/ACI.S11256.
5. European Pharmacopoeia 8th edition [Jelektronnyj resurs]. Available at: <http://online.edqm.eu/entry.htm>.
6. Harikrishna M., Rama Mohan H., Dubey P.K. et al. Facile route for synthesis of structural analogs for latanoprost: an anti–glaucoma agent. *Asian journal of chemistry*, 2011, no. 23 (7), pp. 3121–3126.
7. Johnson T.V., Gupta P.K., Vudathala D.K. et al. Thermal stability of bimatoprost, latanoprost, and travoprost under simulated daily use. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics*, 2011, no. 27 (1), pp. 51–59. DOI:10.1089/jop.2010.0115.
8. Rele R.V., Mhatre V.V., Parab J. M., C. B.Warkar. Simultaneous RP HPLC determination of latanoprost and timolol maleate in combined pharmaceutical dosage form. *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 2011, no. 3 (1), pp. 138–144.
9. Pratiksh P., Prabhanjan G., Priti P. Bioanalytical method development and validation for latanoprost quantification in pharmaceutical ophthalmic microemulsion formulation by RP–HPLC. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2015, no. 6 (6), pp. 284.
10. Suhagia B.N., Shah S.A., Rathod I.S. et al. Spectrophotometric estimation of betaxolol hydrochloride in bulk powder and its dosage forms. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 2006, no. 68 (2), pp. 267–269.
11. The United States Pharmacopeia 38th edition [Jelektronnyj resurs]. United States Pharmacopeial Convention. Available at: [http:// www.uspnf.com/uspnf/login](http://www.uspnf.com/uspnf/login).
12. Walash M., Rania El–S. Fast separation and quantification of three antiglaucoma drugs by high-performance liquid chromatography UV detection. *Journal of food and drug analysis*, 2016, pp. 441–449.

Контактная информация

Жилякова Елена Теодоровна – д. фарм. н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии, Медицинский институт Белгородского государственного национального исследовательского университета, e-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru