

Određivanje cinarizina tekućinskom kromatografijom

Vuković, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:341598>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-01**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Petra Vuković

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

ODREĐIVANJE CINARIZINA TEKUĆINSKOM KROMATOGRFIJOM

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za analitičku kemiju

Mentor rada: prof. dr. sc. Nives Galić

Zagreb, 2024.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

17. srpnja 2024.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

20. rujna 2024.

Mentor rada: prof. dr. sc. Nives Galić

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME	2
2.1. Cinarizin	2
2.2. Kromatografija.....	4
2.2.1. Tekućinska kromatografija.....	6
2.2.2. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti	6
2.3. Analiza cinarizina pomoću HPLC	8
2.3.1. Analiza cinarizina u ljudskoj plazmi	9
2.3.2. Analiza cinarizina u plazmi štakora.....	13
2.4. Zaključak.....	16
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XVII

§ Sažetak

Ubrzani razvoj farmaceutske industrije, dovodi do stalnog otkrivanja novih lijekova i kontinuiranog poboljšanja već odavno poznatih formulacija. S tim u vezi vrlo je važna i njihova detaljna karakterizacija. Cinarizin je derivat piperazina koji se koristi za liječenje posljedica Menierove bolesti (endolimfatični hidrops) te nekih drugih poremećaja vestibularnog sustava srednjeg uha. Učinkovit je u prevenciji i liječenju kinetoza te se primjenjuje kod mučnina i vrtoglavica. Svrha ovoga rada je dati pregled korištenja tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC) u istraživanju cinarizina. U radu će biti prikazani i analizirani rezultati provedenih istraživanja.

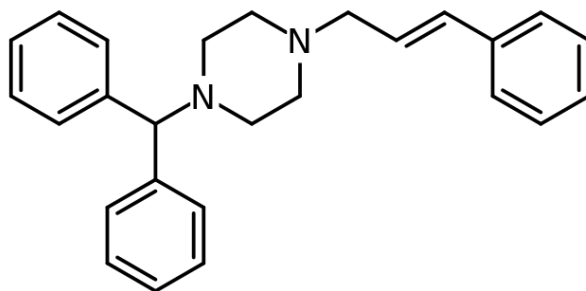
§ 1. UVOD

Da bi se očuvalo zdravlje i posljedično poboljšala kvaliteta života potreban je kontinuirani razvoj novih lijekova i poboljšanje poznatih formulacija. Farmaceutska industrija je jedna od najbrže rastućih industrija pa samim time i područje od interesa vrlo velikog broja istraživača. Farmakokinetika se bavi istraživanjem svojstava lijeka te njegovih nuspojava i eventualnih nedostataka prije puštanja na tržište s ciljem što bolje primjene određenog lijeka. Cinarizin je na tržištu lijekova prisutan dugi niz godina i prvi put ga je sintetizirala tvrtka Janssen Pharmaceutica 1955. godine. Djeluje kao antihistaminik te blokator kalcijevih kanala. Pokazao se koristan kod liječenja posljedica Menierove bolesti, nekih poremećaja vestibularnog sustava srednjeg uha, mučnina i vrtoglavica te u prevenciji i liječenju kinetoza. Koristi se i zbog antialergijskog djelovanja te inhibiranja djelovanja serotonina i dopamina. Konzumira se oralno u obliku tableta. U razvoju novih lijekova i poboljšanju poznatih formulacija veliku ulogu ima i suvremena analitika. U ovome radu opisana je primjena tekućinske kromatografije korištene u analizi cinarizina.

§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

2.1. Cinarizin

Cinarizin (1-trans-cinamil-4-difenilmetilpiperazin), molekulske formule $C_{26}H_{28}N_2$ i molekulske mase 368,51 g/mol derivat je piperazina (slika 1).¹ Izvorno je dobiven iz korijena trske (Cinna). Djeluje kao antihistaminik te blokator kalcijevih kanala. Pretežito se koristi za liječenje posljedica Menierove bolesti, nekih drugih poremećaja vestibularnog sustava srednjeg uha. Učinkovit je u prevenciji i liječenju kinetoza. Primjenjuje se kod mučnina i vrtoglavica. Često se koristi zbog antialergijskog djelovanja te inhibiranja djelovanja serotonina i dopamina.



Slika 1. Cinarizin²

Cinarizin je hidrofobna molekula. Topljivost cinarizina jako ovisi o pH. Topljivost, otapanje i taloženje u gastrointestinalnom traktu mogu biti kritični za oralnu bioraspoloživost slabo bazičnih lijekova. Slaba topljivost koja uzrokuje slabo otapanje u gastrointestinalnom traktu glavni je problem za lijekove kao što je cinarizin namijenjene sustavnom djelovanju nakon oralne primjene. Cinarizin je slabo topljiv u vodi što dovodi do njegove smanjene bioraspoloživosti, ali vrlo lako prolazi kroz biološke membrane zbog svoje lipofilnosti na koju ukazuje logaritamska vrijednost koeficijenta razdjeljivanja oktanol/voda koja iznosi $\log K_{o/w} = 5,8$. Gu i sur. razvili su novi sustav otapanja s više odjeljaka modificiranjem konvencionalnog sustava otapanja sa šest posuda prema Farmakopeji Sjedinjenih Država za proučavanje otapanja i mogućeg taloženja slabo topljivih slabih baza nakon oralne primjene.³ Cinarizin ima veću topljivost pri nižem pH (0,29 mg/mL u 0,1 mol/L HCl) i manju topljivost pri višem pH

(0,002 mg/mL u fosfatnom puferu pH 7,2). Njegovo glavno mjesto apsorpcije je želudac (gornji dio gastrointestinalnog trakta). Ciniirazin inhibira kontrakcije vaskularnih glatkih mišićnih stanica inhibicijom L-tipa i T-tipa naponskih kalcijevih kanala.⁴ Može ublažiti povraćanje uzrokovano mučninom vezanjem na dopaminske D2 receptore, histaminske H1 receptore i muskarinske acetilkolinske receptore.⁵ Djeluje tako da ometa prijenos signala između vestibularnog aparata unutarnjeg uha i centra za povraćanje hipotalamusa.^{5,6} Lijek je dostupan na tržištu i ima terapijski potencijal za liječenje stanja mučnine (npr. mučnine u vožnji) i povraćanja. U jednom istraživanju opaženo je da je kombinacija cinirazina s doperadonom učinkovitija od primjene isključivo cinirazina.⁷ Na tržištu su od tada prisutne mnoge formulacije lijekova koje se sastoje od kombinacije cinirazina i doperadona kao što su Stugil tablete tvrtke Eris Lifesciences Ltd., Vertigil tablete tvrtke Cipla Ltd. i Stetidom tablete tvrtke Dr. Morepen Ltd. Oba lijeka pojedinačno pripadaju lijekovima biofarmaceutskog klasifikacijskog sustava (BCS) II, što znači da imaju lošu topljivost i dobru propusnost.^{5,8,9} S obzirom na sinergijski učinak ovih lijekova, njihova simultana kvantifikacija u plazmi je vrlo korisna.

Biofarmaceutski sustav klasifikacije (BCS) napredni je alat koji se koristi za klasifikaciju lijekova na temelju topljivosti u vodi i crijevne propusnosti, koji utječu na apsorpciju aktivnih farmaceutskih sastojaka (API) iz čvrstih oralnih oblika s trenutnim otpuštanjem.¹⁰

Prema BCS sustavu, lijekovi se svrstavaju u četiri vrste na temelju njihove crijevne propusnosti i topljivosti. BCS klasifikacija temelji se na ključnim parametrima kao što su topljivost, brzina otapanja i propusnost, koji kontroliraju apsorpciju. U slučaju lijekova klase I, apsorpcija je maksimalna, lijekovi klase II pokazuju ograničenu topljivost, lijekovi klase III imaju ograničenu propusnost, lijekovi klase IV se slabo apsorbiraju.

Lijekovi CS klase II imaju visoku propusnost i nisku topljivost. Ovi lijekovi imaju visok broj apsorpcije, ali mali broj razgradnje. Otapanje lijeka *in vivo* je tada napredni korak koji ograničava brzinu apsorpcije, osim u vrlo visokim brojevima doza. Ovi lijekovi imaju različitu bioraspodivnost i zahtijevaju poboljšanu topljivost ili otapanje kako bi se povećala bioraspodivnost.

2.2. Kromatografija

Kromatografija je jedna od fizikalno-kemijskih metoda koja se koristi za razdvajanje smjese spojeva na temelju njihove različite raspodjele između dviju faza, stacionarne (nepokretne) i mobilne (pokretne), a koje se ne miješaju. Nepokretna faza je čvrsta ili u obliku gela dok mobilna (pokretna) faza može biti plin, tekućina ili fluid pri superkritičnim uvjetima. Tako se mogu razlikovati plinska, tekućinska i fluidna kromatografija pri superkritičnim uvjetima. U plinskoj kromatografiji pokretna faza naziva se plin nosilac, a u tekućinskoj kromatografiji eluens. U kromatografiji pokretna faza nosi komponente uzorka kroz nepokretnu fazu. Odjeljivanje komponenti temelji se na razlikama u brzini njihova kretanja kroz kromatografsku kolonu. Razlika u brzini kretanja javlja se usljed različite interakcije komponenti smjese s nepokretnom, odnosno nepokretnom i pokretnom fazom.¹¹

Kromatografske metode obično se dijele prema obliku kromatografske podloge, prema agregatnom stanju pokretne faze, te prema mehanizmu odvajanja.

Prema obliku kromatografske podloge kromatografske metode dijele se na:

- a) kolonsku
- b) plošnu.

Prema agregatnom stanju pokretne faze kromatografske metode dijele se na:

- a) tekućinsku kromatografiju
- b) plinsku kromatografiju

Kromatografske metode prema mehanizmu odjeljivanja dijele se na:

- a) afinitetnu
- b) ionsko-izmjenjivačku
- c) adsorpcijsku
- d) razdjelnu
- e) kromatografiju isključenjem.

Kromatografske tehnike su najčešće korištene tehnike u analitici lijekova, gdje se primjenjuju za odjeljivanje, identifikaciju i određivanje sastava višekomponentnih uzoraka. Farmaceutska primjena najčešće uključuje kontrolu stabilnosti lijeka, kontrolu kvalitete te istraživanja topljivosti.

2.2.1. Tekućinska kromatografija

Tekućinska kromatografija (LC, eng. *Liquid Chromatography*) je separacijska metoda koja se vrlo često koristi u odjeljivanju otopljenih tvari između stacionarne faze i tekuće mobilne faze. Do odjeljivanja dolazi uslijed različite sklonosti sastojaka smjese prema fazama. Prema obliku kromatografske podloge kromatografija može biti

- a) kolonska (nepokretna faza se nalazi unutar kolone)
- b) plošna (nepokretna faza je ploha).

2.2.2. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) je tehnika koja se koristi za separaciju, identifikaciju i kvantifikaciju sastojaka smjese u istraživanjima te različitim granama industrije kao što su farmaceutska, naftna i prehrambena industrija. HPLC je „unaprijeđeni“ oblik kolonske tekućinske kromatografije gdje je kao glavna razlika između HPLC i LC način putovanja mobilne faze. Kod LC mobilna faza putuje pod utjecajem sile gravitacije, a kod HPLC pod utjecajem visokog tlaka.

Suvremeni uređaj za tekućinsku kromatografiju velike djelotvornosti sastoji se od jednog ili više staklenih ili čeličnih spremnika, od 500 mL ili više, u kojima se nalazi otapalo.¹² Često se u sklopu tog sustava nalazi oprema za uklanjanje plinova ili čvrstih čestica, iz tekućina. Zbog stvaranja mjehurića plinovi mogu prouzročiti širenje zona eluiranih sastojaka, a mjehurići i čestice mogu ometati rad detektora. Odstranjivači plina mogu se sastojati od sustava vakuum crpki, destilacijskog uređaja, grijača i miješalice ili sustava za otplinjavanje u kojemu se otopljeni plinovi odstranjuju iz otopine nošeni mjehurićima inertnog plina netopljivoga u mobilnoj fazi.

Najjednostavniji način odjeljivanja tekućinskom kromatografijom jest izokratna elucija, pri kojoj analit kroz kolonu nosi jedno otapalo. Međutim, često se bolji kromatogram dobije gradijentnom eluacijom uz upotrebu dvaju (pokatkad i više) sustava otapala različitih polarnosti.

Crpke u tekućinskoj kromatografiji moraju biti primjenjive za rad pri tlaku do 40 milijuna Pa, izlaz iz crpke mora se dešavati bez pulsiranja tlaka. Brzine protoka najčešće su od 0,1 mL/min do 10 mL/min, reproducibilnost protoka od 99.5% ili bolja te trebaju biti otporne na koroziju izazvanu različitim otapalima. Pogodne su dvije vrste mehaničkih crpki, crpka s vijčanim pogonom i recipročna crpka. Recipročne crpke upotrebljavaju se češće i prednost takvih crpki je mali unutarnji volumen, visoki vanjski tlak do 70 milijuna Pa, mogućnost primjene za gradijentnu eluciju, stalni protoci koji ne ovise ni o povratnom tlaku u koloni ni o viskoznosti otapala.

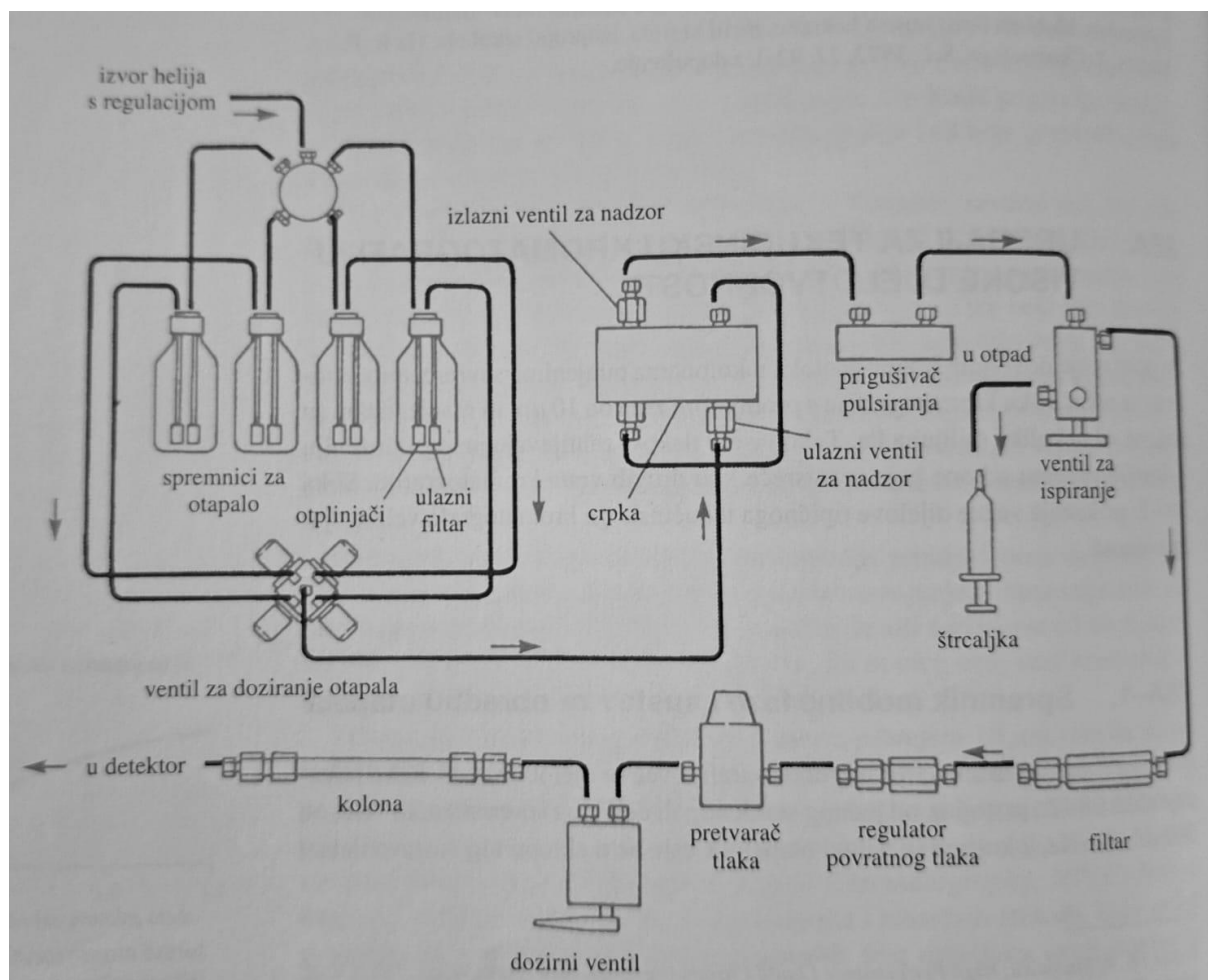
Uzorak se unosi kroz elastičnu membranu, tzv. septum. Taj način nije osobito reproducibilan pa je ograničen na tlakove niže od 10 milijuna Pa.

Kolone koje se najčešće upotrebljavaju u visokodjelotvornoj tekućinskoj kromatografiji najčešće su izrađene od čeličnih cijevi, iako se pokatkad, uz niske tlakove (<4 milijuna Pa), upotrebljavaju i staklene cijevi debljih stijenki. Kolone su najčešće duge (10–30) cm, unutrašnjeg promjera (4–10) milimetara. Punilo koje se obično upotrebljava je silikagel.

Detektori koji se često upotrebljavaju temelje se na apsorpciji ultraljubičastog ili vidljivog zračenja.

Glavne prednosti HPLC su:

- (1) visoko razlučivanje, koje omogućava lako odjeljivanje komponenata iz smjesa koje se ne mogu odijeliti običnim tehnikama
- (2) brzina, gdje je vrijeme jedne kromatografije s pripremom u pravilu kraće od 1 h
- (3) visoka osjetljivost, koja u pojedinim slučajevima omogućuje kvantitativno određivanje materijala u količinama <1 pmol
- (4) mogućnost automatizacije.



Slika 2. Shematski prikaz uređaja za visokodjelotvornu tekućinsku kromatografiju.¹²

2.3. Analiza cinarizina pomoću HPLC

2.3.1. Analiza cinarizina u ljudskoj plazmi

Nowacka-Krukowska i sur. su tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti analizirali cinarizin u ljudskoj plazmi.¹³ Postupak uključuje ekstrakciju tekuće-tekuće nakon koje slijedi primjena tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti obrnutih faza (RF-HPLC) s fluorimetrijskom detekcijom. Metoda je potvrđena za točnost, preciznost, specifičnost, linearnost, osjetljivost, analitički povrat i stabilnost. Nije pronađen nijedan endogeni spoj koji bi interferirao.

Apsolutna ekstrakcija cinarizina i klocinizina (interni standard) iz uzoraka plazme bila je 97% odnosno 89%. Linearnost je procijenjena u rasponu (1–100) ng/mL. Unutardnevna i međudnevna relativna standardna devijacija bila je manja od 10%, a točnost testa izražena pristranošću bila je u rasponu (0,14–2,37)%. Metoda se pokazala prikladnom za farmakokinetičke studije kod ljudi nakon jednokratne oralne primjene doza.

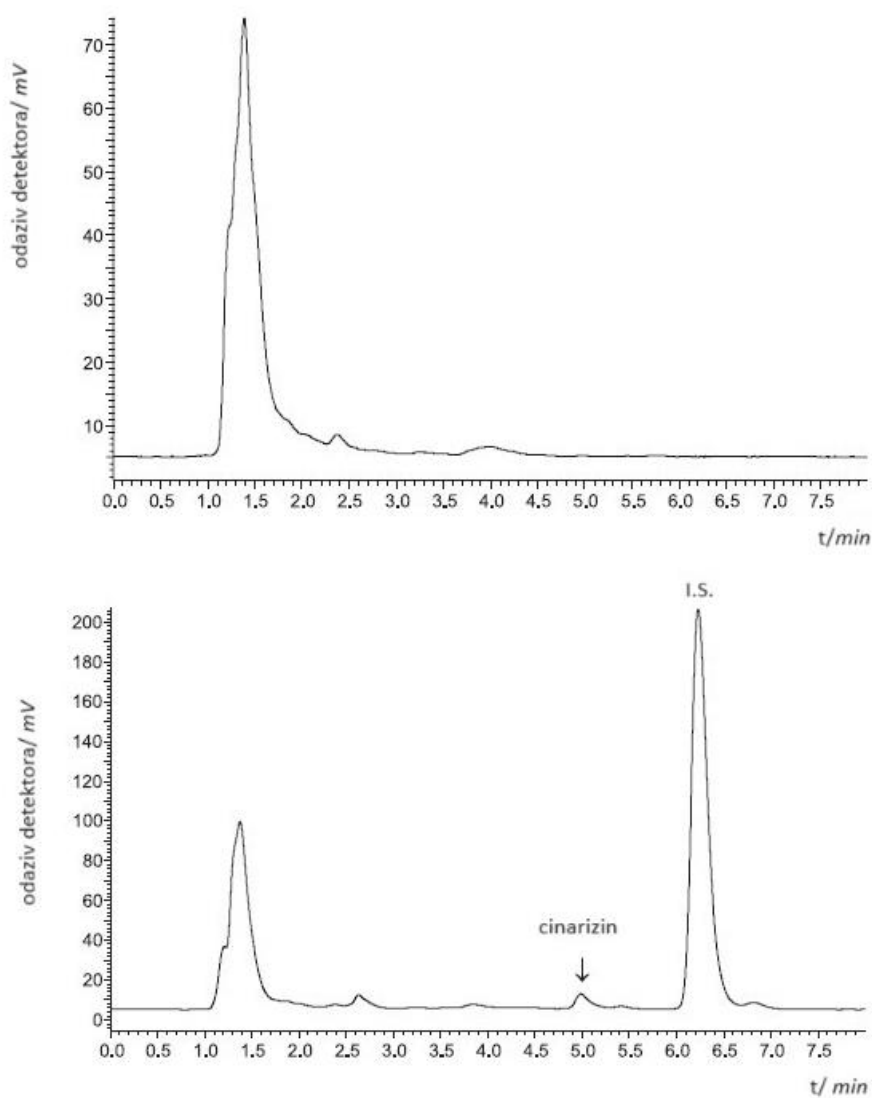
Farmakokinetički parametri za cinarizin određeni su iz podataka o koncentraciji u plazmi i vremenu uz pomoć programa Summit PK Solutions 2.0[®]. Maksimalna koncentracija u plazmi (C_{max}) i vrijeme zadržavanja (t_{max}) za cinarizin uzeti su izravno iz eksperimentalnih podataka. Konstanta brzine eliminacije (k_{el}) procijenjena je pomoću regresijske analize najmanjih kvadrata iz podataka posljednje 3-4 točke svake krivulje ovisnosti koncentracije o vremenu. Završno poluvrijeme eliminacije ($t_{1/2}$) bilo je izračunato kao $\ln 2/k_{el}$.

Izbor organskog otapala bio je jedan od najvažnijih koraka u razvoju metode ekstrakcije. U prethodno objavljenim metodama korišten je ugljik tetraklorid koji je vrlo otrovan spoj. U ovom radu kao otapalo za ekstrakciju odabrana je smjesa kloroforma i n-heksana zbog ekološke prihvatljivosti.

Selektivnost metode dokazana je na šest slijepih uzoraka plazme dobivenih iz zdravih dobrovoljaca. Tipični kromatogram slijepe probe plazme prikazan je na slici 3A.

Pikovi cinarizina i internog standarda bili su dobro odvojeni kao što je očito iz kromatograma uzorka plazme obogaćenog testnom smjesom (slika 3B). Kalibracijske krivulje bile su linearne u rasponu od 1 ng/mL do 100 ng/mL.

Najniža detektabilna koncentracija cinarizina (LOD) određena je kao 1,25 ng/mL ($S/N = 3$). Donja granica kvantifikacije (LLOQ) iznosila 1 ng/mL, a relativna standardna devijacija (RSD) ponovljivosti mjerenja iznosila je 7,4% ($n = 6$).



Slika 3. Kromatogram (A) uzorka ljudske plazme i (B) uzorka ljudske plazme uz dodatak 3.125 ng/mL cinarizina i 125 ng/mL internog standarda. Vrijeme retencije cinarizina i internog standarda iznose 5,02 odnosno 6,35 minuta.¹³

Unutardnevna i međudnevna preciznost i točnost prikazane su u tablici 1. Unutardnevna preciznost i točnost određene su za ponovljene analize ($n = 6$) uzoraka kontrole kvalitete (niske, srednje i visoke koncentracije) istog dana, a međudnevna preciznost i točnost na tri uzastopna dana.

Tablica 1. Unutardnevna i međudnevna srednja vrijednost, preciznost i točnost.

Referentna vrijednost/ ng/mL	Unutardnevna (n=6)			Međudnevna (n=6)		
	Srednja vrijednost/ \pm SD	Preciznost/ %RSD	Točnost/ % bias	Srednja vrijednost/	Preciznost/ %RSD	Točnost/ % bias
3.125	3.327 \pm 0.03	1.02	6.46	3.160 \pm 0.18	5.87	0.40
50.00	50.07 \pm 0.95	1.90	0.14	51.01 \pm 2.82	5.52	2.03
80.00	80.68 \pm 0.82	1.02	0.85	81.90 \pm 3.18	3.88	2.37

Provjerena je stabilnost cinarizina tijekom ciklusa smrzavanja i odmrzavanja, kratkoročna stabilnost na sobnoj temperaturi i dugoročna stabilnost u zamrzivaču (-70°C).

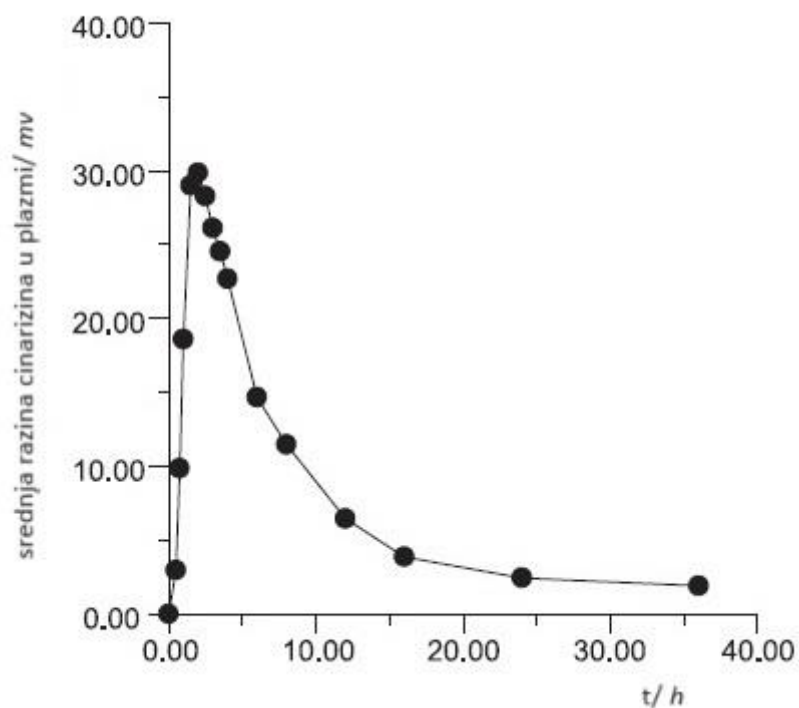
Pripremljeni su uzorci ljudske plazme s niskom, srednjom i visokom koncentracijom cinarizina. Nakon 24 h smrzavanja, uzorci su zagrijani do sobne temperature bez zagrijavanja i zatim su opet bili zamrznuti. Postupak je ponovljen u dva ciklusa. Nakon 72 h izračunate su koncentracije uzoraka iz dnevne kalibracijske krivulje. Dobivene su koncentracije unutar $\pm 9\%$ normalne koncentracije.

Pripremljena su dva seta uzoraka za kontrolu kvalitete (QC). Jedan je analiziran neposredno nakon pripreme, a drugi je stavljen u automatski uzorkivač (eng. *autosampler*) pri temperaturi od 21°C te analiziran nakon 20 h.

Predložena metoda je već korištena za određivanje cinarizina u uzorcima plazme 24 zdrave muške osobe. Rezultati su prikazani na slici 4 i u tablici 2. Razina cinarizina u plazmi dosegla je maksimum 2 sata nakon primjene.

Tablica 2. Farmakokinetički parametri cinarizina nakon jednokratne oralne primjene 25 mg Stugeron tableta na 24 zdrava dobrovoljca.

Farmakokinetički parametri	Srednja vrijednost/ \pm SD
k_{el}/h	0,0374 \pm 0,0286
$t_{1/2}/h$	29,48 \pm 19,48
$C_{max}/ng/mL$	35,39 \pm 16,84
t_{max}/h	2,2 \pm 0,8
$AUC_t/ng \times h/mL$	289,75 \pm 223,63
$AUC_{\infty}/ng \times mL$	370,10 \pm 314,75
$(AUC_t/AUC_{\infty})/\%$	82,6 \pm 9,4



Slika 4. Srednja razina cinarizina u plazmi kod 24 zdrava dobrovoljca nakon jedne oralne doze od 25 mg Stugeron tableta.¹³

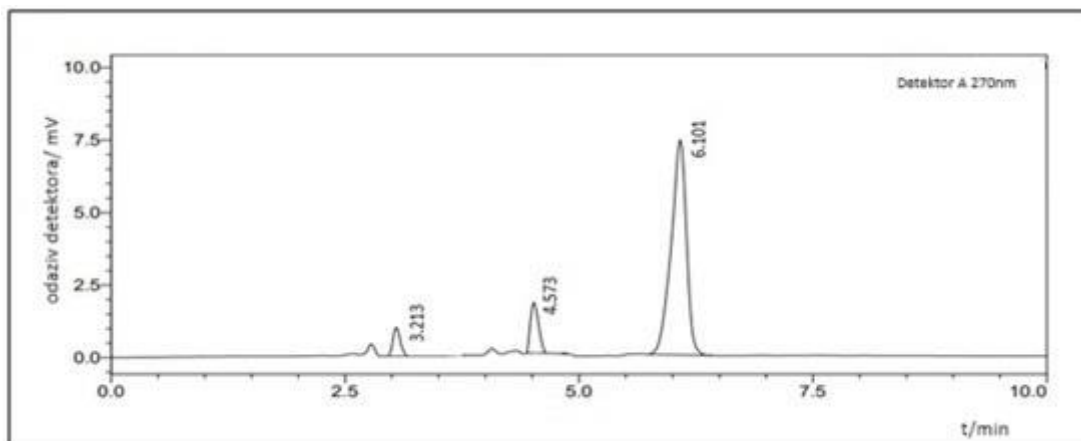
2.3.2 Analiza cinarizina u plazmi štakora

Grupa autora razvila je točnu, preciznu i osjetljivu metodu RP-HPLC za određivanje cinarizina (CIN) i domperidona (DON) u plazmi štakora koristeći irbesartan (IRB) kao interni standard (IS). Predložena metoda validirana je prema najnovijim ICH smjernicama (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals). Analiti (CIN i DOM) i IS ekstrahirani su iz uzoraka plazme precipitacijom proteina.

Kromatografsko odvajanje postiže se C18 SunfireTM (5 m, 250 mm 4,6 mm) analitičkim kolonama, uz izokratno eluiranje korištenjem mobilne faze koja se sastoji od acetonitrila i metanola u omjeru 30:70 pri brzini protoka od 1 mL/min. Detekcija sva tri sastojka zabilježena je pri valnoj duljini od 270 nm s UV detektorom. DOM, CIN i IS eluirani su nakon 3,2, 4,5 odnosno 6,1 min,

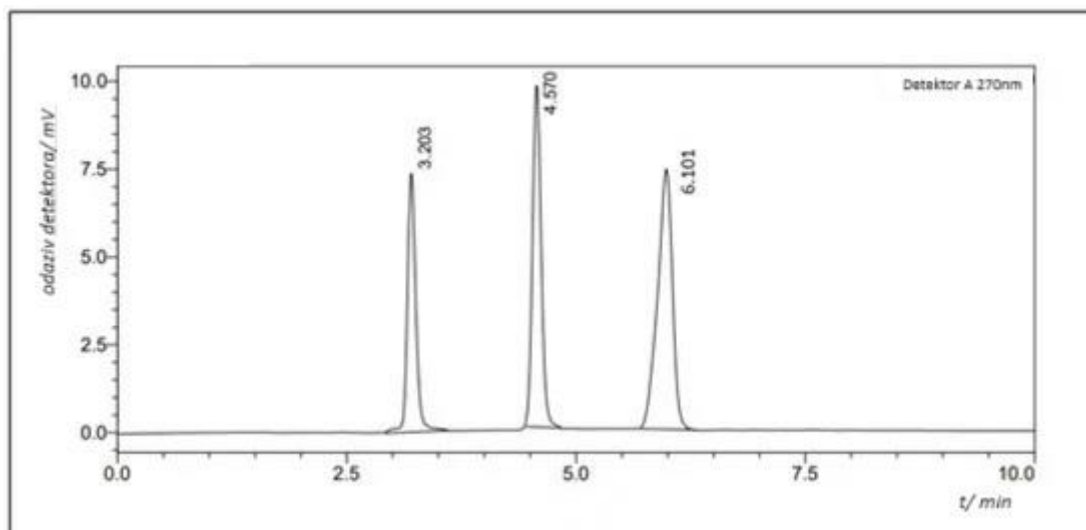
koristeći ukupno vrijeme rada od 10 min. Donja granica kvantifikacije (LLOQ) bila je 5 ng/mL za CIN i DOM u plazmi štakora. Predložena RP-HPLC metoda bila je linearna u rasponu (5–200) ng/mL za CIN i DOM. Iskorištenje metode bilo je veće od 95%, a relativna nesigurnost manja od 2%. Navedeni rezultati ukazuju na to da je predloženi bioanalitički pristup bio točan i precizan. Ograničenje detekcije utvrđeno je od 1,1 ng/mL za CIN i 1,7 ng/mL za DOM. Predložena metoda robusna je metoda koja zadovoljava sve zahtjeve validacije; stoga se predloženi RP-HPLC pristup može uspješno upotrijebiti za istovremeno određivanje CIN i DOM u plazmi štakora.

Na temelju rezultata, dobivena vrijednost LLOQ za CIN i DOM iznosi 5 ng/mL s volumenom kolone (CV) od 3,78% odnosno 3,61%. Dobivene vrijednosti volumena kolone za oba lijeka ispunjavaju zahtjeve (tj. ne više od 20%); stoga je ova koncentracija (5 ng/mL) odabrana kao LLOQ. Kromatogram je prikazan na slici 5.



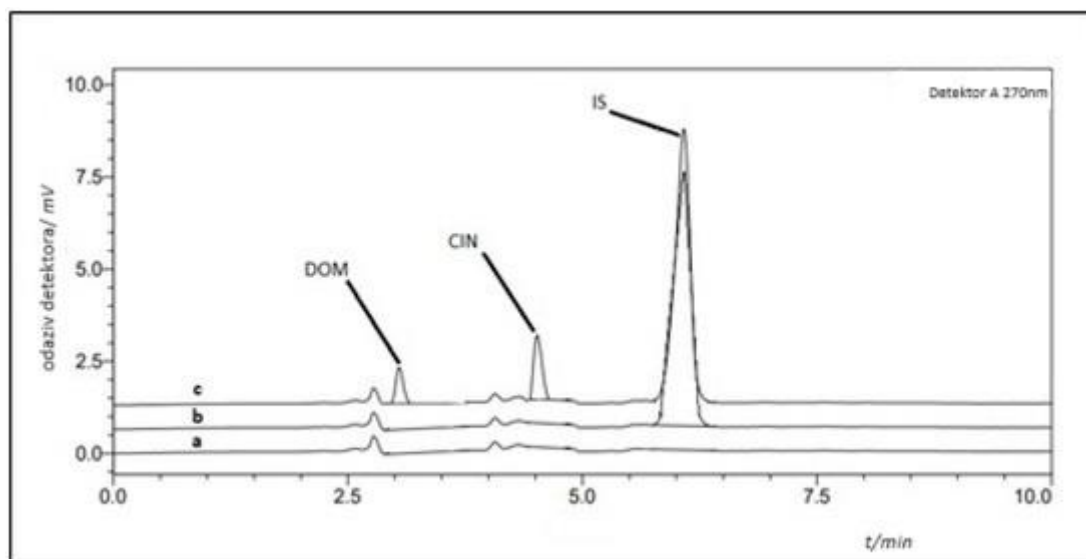
Slika 5. RP-HPLC kromatogram DOM i CIN u plazmi pri LLOQ koncentraciji s IRB kao internim standardom.⁹

Kromatogram za DOM, CIN i IRB prikazan je na slici 6. Poznato je da se spojevi sa strukturno sličnim analogima i sličnim fizikalno-kemijskim svojstvima i funkcijskim skupinama mogu koristiti kao IS. CIN i DOM pripadaju BCS lijekovima klase II.⁹ IRB kao i CIN i DOM pripada BCS lijekovima klase II, sa sličnim profilom topljivosti i propusnosti. Nadalje, molekulska masa IRB-a je u istom rasponu kao i analita. Topljivost i molekulska masa analita imaju ključnu ulogu u odvajanju i vremenu zadržavanja analita. Kao rezultat toga, odabran je IRB kao IS na temelju fizikalno-kemijskih svojstava. Utvrđeno je da su retencijska vremena za DOM, CIN i IRB 3,20, 4,57 i 6,1 min.



Slika 6. RP-HPLC kromatogram DOM, CIN i IRB u mobilnoj fazi.⁹

Slika 7 prikazuje kromatogram slijepe probe plazme. Iz rezultata je vidljivo da matrica plazme nije imala utjecaja na kvantifikaciju bilo kojeg lijeka ekstrahiranog iz plazme, jer se se u kromatogramu nisu pojavili pikovi za (RT) DOM, CIN i IRB. Slični rezultati dobiveni su kada je prazna plazma štakora obogaćena s CIN i DOM pri LLOQ (5 ng/mL), a plazma štakora obogaćena je IRB-om od 10 $\mu\text{g/mL}$, pokazujući nedostatak bilo kakvog pika u plazmi u razdobljima zadržavanja oba lijeka (slika 7). Stoga se metoda smatra specifičnom i selektivnom.



Slika 7. RP-HPLC kromatografije (a) slijepe probe štakorske plazme, (b) slijepe probe štakorske plazme obogaćene IS i (c) slijepe probe štakorske plazme dodane CIN i DOM na LLOQ (5 ng/mL) i IS.⁹

2.4. Zaključak

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti prikladna je i učinkovita tehnika za određivanje farmakokinetičkih parametara cinarizina u ljudskoj plazmi i plazmi štakora.

Farmaceutski proizvodi cinarizina komercijalizirani su globalno kao pripravci s trenutnim otpuštanjem koji pokazuju nisku apsorpciju s niskom i nestalnom bioraspoloživošću. Pristupi poboljšanju bioraspoloživosti u konstantnom su razvoju.

Određivanje cinarizina u ljudskoj plazmi opisano u ovom radu rezultiralo je razvojem brze i precizne metode. Određena apsolutna ekstrakcija cinarizina i klocinizina (interni standard) iz uzoraka plazme iznosila je 97% odnosno 89%. Linearnost je procijenjena u rasponu (1–100) ng/mL. Unutardnevna i međudnevna relativna standardna devijacija bila je manja od 10%, a točnost testa izražena pristranošću bila je u rasponu (0,14–2,37)%.

Određivanje cinarizina u plazmi štakora provedeno je zajedno s određivanjem domperidona pomoću jednostavnog, izokratnog bioanalitičkog pristupa temeljenog na tehnici RP-HPLC koji je osmišljen i učinkovito validiran. Tehnika koristi vrlo malu količinu uzorka plazme za analizu i ne zahtijeva složenu pripremu uzorka. Na temelju rezultata, dobivena vrijednost LLOQ za CIN i DOM iznosi 5 ng/mL s volumenom kolone (CV) od 3,78% odnosno 3,61%.

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. S. Raghuvanshi, K. Pathak, *J. Drug Delivery*. **2014** (2014) 479246.
2. <https://www.wikiwand.com/sh/Cinarizin> (datum pristupa 17. srpnja 2024.)
3. C.-H. Gu, D. Rao, R. B. Gandhi, J. Hilden, and K. Raghavan, *J. Pharm. Sci.* **94** (2005) 199–208.
4. M. V. Kirtane, A. Bhandari, P. Narang, R. Santani, *Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg.* **71** (2019) 1060–1668.
5. J. F- Martí-Massó, J. J. Poza, *Mov. Disord.* **13** (1998) 453–456.
6. M. B. Emanuel, J. A. Will, *Proc. R. Soc. Med.* **70** (1977) 7–12.
7. W. J. Oosterveld, *Aviat. Space Environ. Med.* **58** (1987) 218–223.
8. G. A. Shazly, S. Alshehri, M. A. Ibrahim, H. M. Tawfeek, J. A. Razik, Y. A. Hassan, F. Shakeel, *AAPS PharmSciTech.* **19** (2018) 1712–1719.
9. M. Vij, N. Dand, L. Kumar, A. Ankalgi, P. Wadhwa, S. Alshehri, F. Shakeel, M. M. Ghoneim, P. Alam, S.U.D. Wani, *Separations* **10** (2023) 159.
10. R. Samineni, J. Chimakurthy, S. Konidala, *Turk. J. Pharm. Sci.* **19** (2022) 703–713.
11. I. Gruić Sovulj, B. Lenhard, J. Rokov Plavec, I. Landeka Jurčević, M. Močibob, Praktikum iz biokemije, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Kemijski odsjek, Zagreb, 2022, str. 25.
12. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb, 1999, str. 692–701 .
13. H. Nowacka-Krukowska, M. Rakowska, K. Neubart, M. Kobylińska, *Acta Pol. Pharm.* **64** (2007) 407–11.