

УДК 615.07:615.281/.282:615.453.6

Л.О. БОБРИЦЬКА, О.С. НАЗАРОВА*, Ю.М. ВЕРБОВА*

*Національний фармацевтичний університет***Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»*

ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ РОЗРОБКИ ПРЕПАРАТУ «МЕРАДАЗОЛ»

Представлено методики визначення основних показників якості препарату «Мерадазол». Наведений спектрофотометричний метод аналізу для визначення ідентифікації, кількісного вмісту та розчинення орнідазолу. Розроблено методику для визначення супровідних домішок з використанням методу рідинної хроматографії. Вивчена стабільність препарату в процесі зберігання.

Ключові слова: стандартизація, антибактеріальний засіб, орнідазол, таблетки.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Ефективність, безпека і якість лікарських препаратів – це основні характеристики, які полягають в основі фармацевтичної розробки. Сучасна концепція фармацевтичної системи якості заснована на рекомендаціях ІСН [1], згідно з якими якість нових лікарських засобів забезпечується на етапі їх розробки та подальшому впровадженні у промислове виробництво, тобто оцінюється і удосконалюється протягом усього терміну їх «життєвого циклу». Дана концепція підтримується трьома настановами – ІСН Q8 «Фармацевтична розробка», ІСН Q9 «Управління ризиками з якості» та ІСН Q10 «Фармацевтична система якості».

Валідація аналітичної методики – це експериментальний доказ того, що методика придатна для розв'язання поставлених завдань.

Сама процедура валідації аналітичних методик передбачена для того, щоб забезпечити якість та безпечність лікарських препаратів. При цьому валідація аналітичних методик - це один з елементів валідації всього процесу виробництва ліків [2, 4].

Створення вітчизняного протипротозойного та антибактеріального препарату на основі орнідазолу «Мерадазол», робить актуальним розробку методів його контролю якості.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Субстанція орнідазолу не описана в провідних світових фармакопеях, її якість відповідає вимогам фірми «Aarti Drugs Limited», Індія [7] і контролюється відповідно до аналітичної нормативної документації (АНД) вхідного контролю, яка складена згідно з вимогами фірми-виробника.

Лікарські форми з орнідазолом також не описані в фармакопеях, тому розробка методів контролю їх якості є актуальною. За літературними даними [5] розроблена методика кількісного визначення орнідазолу для проведення тесту «Розчинення» методом рідинної хроматографії. Умови проведення тесту обрані наступні: середовище розчинення – 900 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої, швидкість перемішування лопаті 75 об/хв. Показано, що обрані умови та вимоги (вивільнення не менше 85 % за 30 хв.) для тесту «Розчинення» і валідований метод кількісного визначення задовільні і можуть бути застосовані для контролю якості таблеток орнідазолу, вкритих оболонкою [6].

Закордонними авторами проведена робота з розробки та валідації методики одночасного визначення офлоксацину та орнідазолу в таблетованій лікарській формі з використанням методу зворотньофазової рідинної хроматографії. Встановлена лінійна залежність в наступному діапазоні концентрацій: для офлоксацину 5-50 мкг/мл; для орнідазолу 12,5-125 мкг/мл [8].

© Бобрицька Л.О., Назарова О.С., Вербова Ю.М., 2012

ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Метою нашої роботи є розробка й стандартизація методів контролю якості препарату «Мерадазол» за основними показниками, а саме «Ідентифікація», «Кількісне визначення», «Супровідні домішки» та «Розчинення», згідно з вимогами ДФУ до лікарських препаратів у формі таблеток [3].

ВИКЛАД ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ

Об'єктом досліджень є субстанція орнідазолу та таблетки «Мерадазол» (вкриті плівковою оболонкою білого або майже білого кольору, круглої форми, верхня і нижня поверхні яких випуклі).

Аналітичні дослідження проводили методом рідинної хроматографії на хроматографі фірми „Waters 2487” (США), та на спектрофотометрах UV-VIS HP 8453 фірми «Hewlett Packard» (США) та UV-1700 фірми «Shimadzu» (Японія).

Основними показниками якості препарату є «Ідентифікація», «Кількісне визначення», «Супровідні домішки» та «Розчинення», дослідженню яких і присвячена ця робота.

Для ідентифікації орнідазолу в препараті запропоновано використовувати спектрофотометричний метод, який також застосовується для тестів «Розчинення» та «Кількісне визначення».

Експериментально встановлено, що субстанція орнідазолу в спиртовому розчині в області від 240 нм до 360 нм має максимум поглинання при довжині хвилі (312±2) нм. Виходячи з цього, кількісний вміст орнідазолу запропоновано визначати спектрофотометричним методом при довжині хвилі 312 нм. Наявність такого максимуму досліджуваного розчину препарату свідчить про його ідентичність. Типові УФ-спектри поглинання випробуваного розчину таблеток «Мерадазолу» та розчину СЗ орнідазолу, одержані при проведенні тесту «Кількісне визначення», наведено на рис. 1.

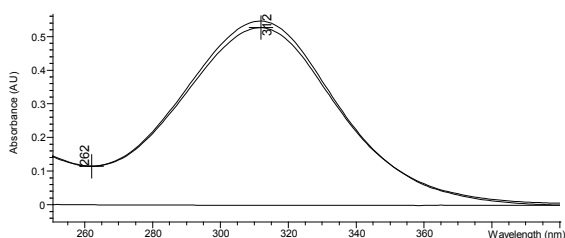


Рис. 1. УФ-спектри розчину СЗ орнідазолу та випробуваного розчину препарату «Мерадазол» для тестів «Ідентифікація» і «Кількісне визначення»

На підставі результатів кількісного визначення орнідазолу в препараті, а також вимог ДФУ, введений інтервал вмісту $C_7H_{10}ClN_3O_3$ (орнідазо-

лу): від 0,475 г до 0,525 г (+5,0% від номінального вмісту), розраховуючи на середню масу таблетки, що відповідає вимогам до якості препарату порівняння. Методика кількісного визначення орнідазолу в таблетках валідована, згідно вимог ДФУ.

Для проведення тесту «Розчинення» в препараті, який проводять відповідно до вимог ДФУ, запропоновано:

- перевагу слід віддати 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої як середовищу розчинення, яке більш близьке до шлункового соку;
- найбільш оптимальним є використання приладу з кошиком, швидкість обертання якого має бути 100 об/хв;
- час розчинення – 45 хв.

Експериментально встановлено, що ступінь вивільнення орнідазолу з досліджуваних зразків на приладі з лопаттю (обертання 50 об/хв) має значення нижче, ніж на приладі з кошиком (обертання 100 об/хв).

Кількісне визначення орнідазолу у середовищі розчинення запропоновано проводити методом абсорбційної спектрофотометрії. Ультрафіолетовий спектр поглинання розчину орнідазолу в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої в області від 220 нм до 320 нм має максимум при довжині хвилі (276±2) нм, тому саме при 276 нм запропоновано проводити вимірювання оптичної густини розчинів після проведення тесту «Розчинення». Типовий спектр випробуваного розчину препарату «Мерадазол» наведено на рис. 2.

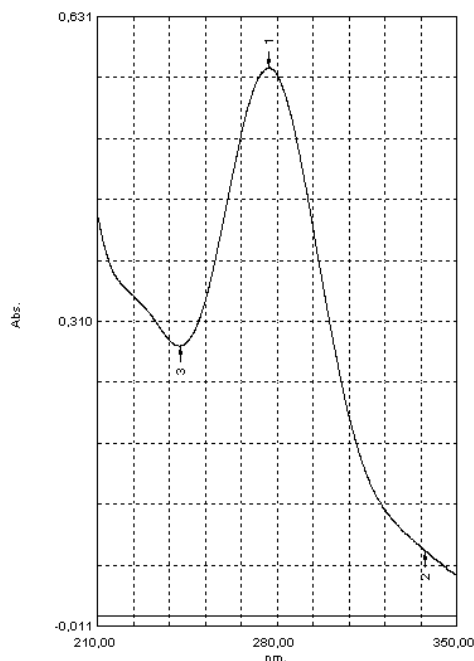


Рис. 2. УФ-спектри випробуваного розчину препарату «Мерадазол» для тесту «Розчинення»

Методика визначення тесту «Розчинення» в таблетках з орнідазолом валідована відповідно до вимог ДФУ розділу «Валідація аналітичних методик і випробувань», виходячи з того, що діапазон застосування запропонованої методики повинен бути не менше + 20 % від нормованої (75-115 %) величини розчинення, тобто 55–135 %.

У табл. 1 приведені результати аналізу модельних сумішей та їх статистична обробка для оцінки прецизійності, правильності та лінійності. З даних таблиці випливає, що для орнідазолу методика аналізу характеризується достатньою прецизійністю (збіжністю). Знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Z (0,99) менше критичного значення для збіжності результатів (3,0 %).

Таблиця 1

РЕЗУЛЬТАТИ АНАЛІЗУ МОДЕЛЬНИХ СУМІШЕЙ І ЇХ СТАТИСТИЧНА ОБРОБКА ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ОРНІДАЗОЛУ ПРИ ПРОВЕДЕННІ ТЕСТУ «РОЗЧИНЕННЯ»

№ модельного розчину	Введено в % до концентрації розчину порівняння ($X_i = C_i/C^{st}$, %)	Середні оптичні густини (A_i) ($A^{st} = 0,5610$)	Знайдене в % до концентрації розчину порівняння ($Y_i = A_i/A^{st}$, %)	Знайдене в % до введеного ($Z_i = Y_i/X_i$, %)
1	54,58	0,3086	55,01	100,79
2	65,03	0,3660	65,24	100,32
3	75,63	0,4228	75,37	99,65
4	85,67	0,4777	85,15	99,40
5	96,85	0,5436	96,90	100,05
6	106,16	0,5945	105,98	99,83
7	114,72	0,6387	113,86	99,25
8	126,34	0,7125	127,00	100,52
9	136,82	0,7640	136,19	99,54
Середнє, Z_{cp} , %				99,93
Відносне стандартне відхилення, RSD, %				0,53
Відносний довірчий інтервал, $\Delta = 1,86 \cdot RSD$, %				0,99
Критичне значення для збіжності результатів Δ_{Δ_s} , % (гранична невизначеність)				3,00
Систематична похибка $\delta = Z_{cp} - 100 $				0,07
Критерій незначимості систематичної похибки				
Статистична незначимість: $\delta \leq \Delta/3 = 0,99/3 = 0,33$ ($0,07 \leq 0,33$)				Виконується
Практична незначимість: $\delta\% \leq 0,32 \cdot 3,00 = 0,96$ % ($0,07 \leq 0,96$)				Виконується
Загальний висновок про методику				Коректна

Виконується критерій незначимості систематичної похибки методики – систематична похибка методики (0,07) є статистично і практично незначущою, тобто методика аналізу характеризується достатньою правильністю в усьому діапазоні концентрацій від 55 до 135 % (табл. 1).

Таким чином, підтверджена лінійність, прецизійність (збіжність) і правильність визначення орнідазолу методом спектрофотометрії в діапазоні використання від 55 до 135 %.

Розрахунок параметрів лінійної залежності $Y_i = b \cdot X_i + a$ (за даними табл. 1) був проведений методом найменших квадратів. Результати наведені в табл. 2 та на рис. 3, приведена лінійна залежність оптичної густини від концентрації орнідазолу в нормалізованих координатах, які свідчать про виконання вимог до параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджується в усьому діапазоні концентрацій 55-135 %.

Таблиця 2

МЕТРОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛІНІЙНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ ДЛЯ ОРНІДАЗОЛУ

Величина	Значення	Критерій (для допусків 95 – 105 %), $g = 9$	Висновок
b	0,99399	–	–
S_b	0,00645	–	–
a	0,4534	1) $\leq 1,895 \cdot S_a = 1,21$ 2) якщо не виконується 1), то $\leq 2,1$	Відповідає
S_a	0,64016	–	–
S_r	0,50908	–	–
r	0,99985	$\geq 0,99839$	Відповідає

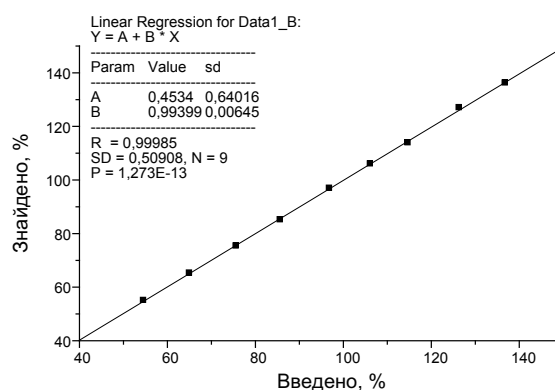


Рис. 3. Лінійна залежність оптичної густини від концентрації орнідазолу в нормалізованих координатах

Прогнозована повна невизначеність результатів 1,32 % не перевищує критичного значення (3,00 %), тобто методика буде давати коректні

результати в інших лабораторіях за показником «Розчинення».

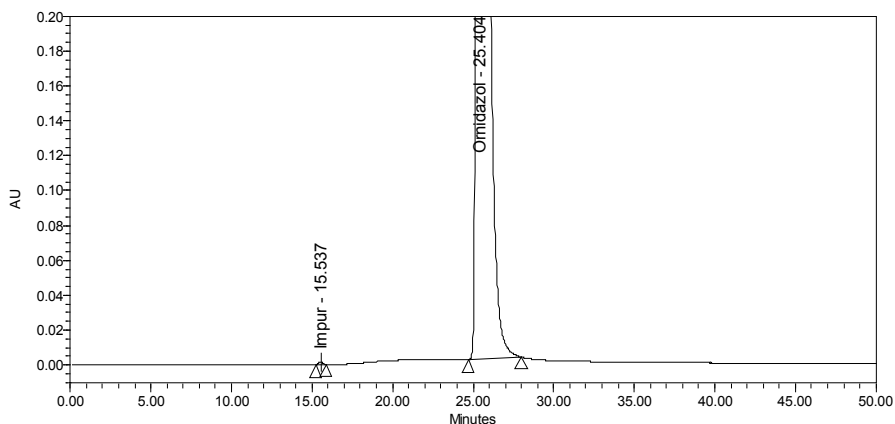
Проект МКЯ розроблено на дослідних зразках, тому нормування по показнику «Розчинення» встановлено в наступних межах: за 45 хв не менше 75 % і не більше 115 % від номінального вмісту, зазначеного у розділі «Склад», що відповідає вимогам національної частини розділу 2.9.3 ДФУ 1.1 вид. Слід зазначити, що для референтного препарату «Тиберал» цей показник складає не менше 75 % за 20 хв. Тому запропоновані межі допустимого вивільнення орнідазолу встановлено на перші роки освоєння препарату, а після одержання статистично достовірних даних по цьому тесту при виробництві препарату у промислових умовах нормування буде уточнено.

Для визначення супровідних домішок в препараті «Мерадазол» розроблено методику з використанням методу рідинної хроматографії. Згідно з документацією фірми-виробника субстанції орнідазолу [7], в останньому визначають суму неідентифікованих домішок, яка має бути не більше 1,0 %. Ми також використали умови проведення цієї методики для визначення домішок у препараті. Хроматографування проводили із використанням колонки Waters Spherisorb ODS2 розміром (4,6 x 250) мм, заповненої сорбентом з розміром часток 5 мкм; рухома фаза: *метанол Р – вода Р*, доведена *кислотою фосфорною Р* до рН = 4,0 (20:80), детектування при довжині хвилі 310 нм. Таким чином умови визначення домішок не відрізняються від умов, наведених в документації фірми-виробника. У препараті визначали суму всіх домішок. Для визначення

вмісту домішок у випробовуваному розчині використовували, як розчин порівняння розведений розчин орнідазолу.

Умови придатності хроматографічної системи: відносно стандартне відхилення з трьох хроматограм, розраховане для площ піків орнідазолу на хроматограмі розчину порівняння, не більше 0,67 %; ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком орнідазолу, не менше 5000 теоретичних тарілок; коефіцієнт симетрії піка орнідазолу не більше 1,8.

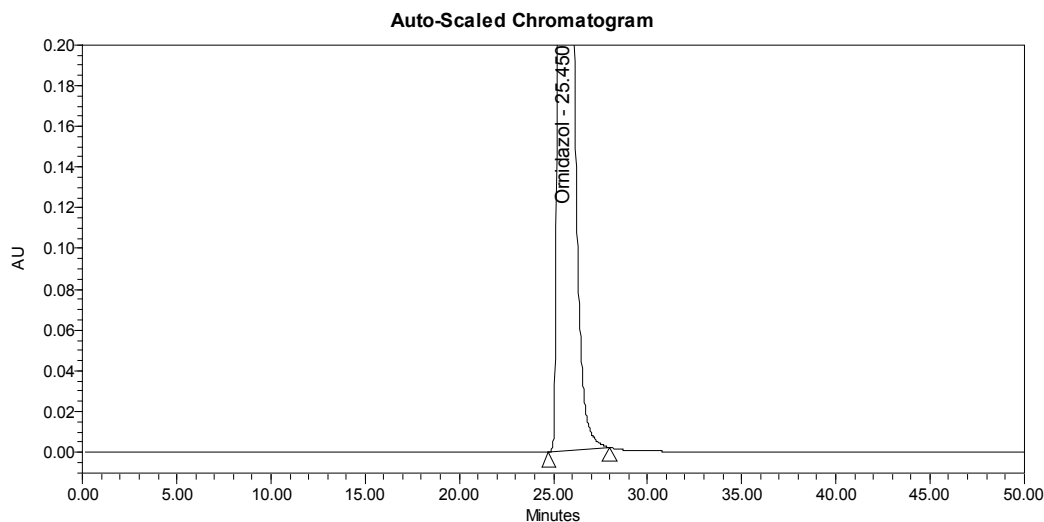
Нами були проведені дослідження з порівняння хроматографічного профілю розроблюваного препарату таблеток «Мерадазол» і референтного препарату «Тиберал» виробництва фірми «Ф.Хоффманн-Ля Рош Лтд», Швейцарія (рис. 4 і 5). Дослідження показали, що на хроматограмах випробовуваного розчину препарату «Мерадазол», виявлена одна домішка (з відносним часом утримання близько 0,6) в кількості близько 0,06 %. На хроматограмах випробовуваного розчину референтного препарату «Тиберал» не виявлено ні однієї супровідної домішки. Треба зазначити, що для виробництва препарату «Тиберал» буде використовуватися субстанція фірми «Aarti Drugs Limited», Індія, а в АНД фірми і, відповідно, в розробленому АНД на вхідний контроль цієї субстанції визначаються лише не ідентифіковані домішки. При цьому нормування домішок в субстанції – не більше 1,0 % суми домішок. Проведені дослідження показали, що їх кількість в таблетках «Мерадазол» не зростає в порівнянні з субстанцією орнідазолу, тобто виявлена домішка є технологічною домішкою суб-



Integration Results

1	Impur	15.537	15.217	15.867	28544	1532	0.06	BB
2	Ornidazol	25.404	24.683	27.967	45737738	1251360	99.94	BB

Рис. 4. Хроматограма випробовуваного розчину препарату «Мерадазол», таблетки для визначення тесту «Супровідні домішки»



Integration Results

	Name	RT	Start Time	End Time	Area	Height	% Area	Int Type
1	Ornidazol	25.450	24.750	27.967	40502506	1114939	100.00	BB

Рис. 5. Хроматограма випробовуваного розчину референтного препарату таблеток «Тиберал» для порівняння хроматографічного профілю при визначенні тесту «Супровідні домішки»

станції. Таким чином, не зважаючи на те, що в препараті «Мерадазол» виявлена одна домішка, але її кількість значно менша за допустиму норму – 1,0 % суми домішок. Визначити ідентифіковані домішки Ro 04-4699, Ro 04-0124, Ro 11-2616, які зазначені в специфікації на лікарський засіб «Тиберал», не є можливим на даному етапі, оскільки субстанція орнідазолу не описана в жодній з фармакопей, а в матеріалах фірми-виробника «Aarti Drugs Limited», Індія ці домішки не визначаються. При цьому ми не маємо повного досьє фірми «Ф.Хоффманн-Ля Рош Лтд» (Швейцарія) для того, щоб визначити, які саме за хімічним складом є домішки, які зашифровані і в яких умовах вони визначені. З погляду на це, вважаємо за можливе ввести в АНД на таблетки нормування домішок – аналогічне АНД фірми-виробника субстанції: не більше 1,0 % суми домішок.

Згідно з матеріалами, що є в довідниках, для таблеток орнідазолу запропоновано зберігання в сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище 30 °С. В процесі довгострокових досліджень вивчення стабільності препарату «Мерадазол», згідно Настанови з якості 42-3.3-2004 «Дослідження стабільності» [5], встановлено, що термін придатності препарату складає 2 роки при зберіганні у відповідних умовах.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ РОЗВІДОК

1. Розроблено та стандартизовано специфічні методики ідентифікації, кількісного визначення та тесту «Розчинення» для препарату «Мерадазол» у формі таблеток з використанням спектрофотометричного методу.

2. Проведені валідаційні дослідження для тесту «Розчинення» підтверджують відповідність таких валідаційних характеристик, як специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність), правильність та діапазон застосування критеріям прийнятності.

3. Розроблена та доведена придатність методики визначення супровідних домішок методом рідинної хроматографії.

4. Вивчено стабільність препарату в процесі зберігання протягом двох років.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Александров А.В. Вызовы и возможности документа ICH Q10 «Фармацевтическая система качества» / Александров А.В. – Промышленное обозрение. – 2008. – №4 (9). – С. 19-21.
2. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества

- лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Фармаком. – 2006. - №1/2. – С. 3-44.
3. Державна фармакопея України Допов. 2 / Державне підприємство Науково-експертний фармакопейний центр. – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2007. – 617 с.
 4. Настанова «Лікарські засоби. Фармацевтична розробка» (Настанова 42-3.1:2004) – К.: МОРИОН. – 2004. – 15 с.
 5. Настанова «Лікарські засоби. Випробовування стабільності» (Настанова 42-3.3:2004) – К.: МОРИОН. – 2004. – 60 с.
 6. Development of new dissolution test and hplc-rp method for anti-parasitic ornidazole coated tablets / Mônica Felts de La Roca Soares e José Larmartine Soares Sobrinho, Severino Grangeiro Júnior, Keyla Emanuelle Ramos da Silva [et al.] // Quim. Nova. - 2010. - Vol. 33, N. 2. – P. 478-481. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2010/vol33n2/41-NT09354.pdf> – Назва з екрану.
 7. Drug master file (for ornidazole) / «AARTI DRUGS LIMITED». - INDIA, 2007. – P. 68.
 8. Method development and validation for the simultaneous estimation of ofloxacin and ornidazole in tablet dosage form by RP-HPLC / B.Dhandapani, N.Thirumoorthy, Shaik Harun Rasheed [et al.] //International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR). – 2010. – Vol.1(1). – P. 78-83. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.ijpsr.info/docs/IJPSR-10-01-01-11.pdf> - Назва з екрану.

УДК 615.07:615.281/.282:615.453.6

Л.А. Бобрицкая, Е.С Назарова, Ю.М. Вербова

**ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ
РАЗРАБОТКИ ПРЕПАРАТА «МЕРАДАЗОЛ»**

Представлены методы определения основных показателей качества препарата «Мерадазол». Приведен спектрофотометрический метод анализа для определения идентификации, количественного определения и растворения орнидазола. Разработана методика для определения сопутствующих примесей с применением жидкостной хроматографии. Изучена стабильность препарата в процессе хранения.

Ключевые слова: стандартизация, антибактериальное средство, орнидазол, таблетки.

UDC 615.07:615.281/.282:615.453.6

L.A.Bobritsky, E.C.Nazarov, J.M.Verbova*

PHARMACEUTICAL QUALITY ASSURANCE OF DEVELOPMENT «MERADAZOL»

Methods of determination of the basic quality indicators of the preparation «MERADAZOL» are represented. Spectrophotometric method of the analysis for the identification, quantitative content and dissolution of ornidazole was offered. Methodology of determination of associated impurities by the method of liquid chromatography has been worked out. Stability of the preparation during storage has been studied.

Key words: standardization, anti-infective preparation, ornidazole, pill.

Адреса для листування:

61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.

Кафедра управління якістю НФАУ.

Тел: (0572) 67-88-52

Надійшла до редакції:

11.10.2011