

На правах рукописи

Иванцов Евгений Николаевич

**РАЗРАБОТКА СОСТАВА, ТЕХНОЛОГИИ И МЕТОДИК АНАЛИЗА
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ГИПОТЕНЗИВНОГО ДЕЙСТВИЯ
ЛИЗИНОПРИЛ И ДЕ-КРИЗ®**

14.04.01 – Технология получения лекарств

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь – 2014

Диссертационная работа выполнена в ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ЗАО «Медисорб»

Научные руководители:

Вдовина Галина Петровна доктор фармацевтических наук, профессор ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России

Ярыгина Татьяна Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Турецкова Вера Феоленовна доктор фармацевтических наук, профессор ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующая кафедрой фармацевтической технологии

Ванькова Нина Алексеевна кандидат фармацевтических наук, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России в г. Пермь «Пермское НПО «Биомед», заместитель главного технолога

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Тюмень

Защита состоится «10» июня 2014 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2, тел.: (342) 233-55-01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46.

Дата размещения объявления о защите диссертации на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации <http://www.mon.gov.ru> «__» _____ 2014 г.

Диссертация, автореферат и объявление о защите диссертации размещены на сайте ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России <http://www.pfa.ru> «__» _____ 2014 г.

Автореферат разослан «__» _____ 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук



Н.В. Слепова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Артериальная гипертензия является не только одним из наиболее широко распространенных заболеваний человечества, но и главным фактором смертности населения. Препарат гипотензивного действия лизиноприл – один из наиболее известных и хорошо изученных ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента с широким спектром действия (Волков А.В., 2010, Подзолков В.И., 2010). К преимуществам комбинации лизиноприла с амлодипином относятся высокая сопоставимость фармакокинетических профилей препаратов, обеспечивающих 24-часовой период действия (Савенков М.П., 2005). Накоплено достаточно данных об эффективности и безопасности комбинации амлодипина и лизиноприла, также в сравнении с монотерапией амлодипином и лизиноприлом (Затейщикова А.А., 2011).

На сегодняшний день в России зарегистрировано только две оригинальные фиксированные комбинации лизиноприла и амлодипина: «Экватор» производства ОАО «Гедеон Рихтер» (Венгрия) и «Эквакард» производства «Микро Лабс Лимитед» (Индия).

Согласно маркетинговым исследованиям, проведенным ЗАО «Медисорб», г. Пермь, установлена целесообразность производства таблеток лизиноприла и комбинированного препарата, содержащего лизиноприл и амлодипин (Де-Криз[®]).

В связи с тем, что многие составы, технологии и методики анализа лекарственных препаратов запатентованы производителями, субстанции и вспомогательные вещества, произведенные разными производителями, имеют различные физические и технологические свойства и для производства готовых лекарственных средств используется оборудование с различными технологическими характеристиками, разработка собственных составов, технологий и методик анализа таблеток лизиноприла и комбинированного препарата Де-Криз[®] является актуальной задачей.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей диссертационной работы является разработка составов, технологии, методик анализа и способов стандартизации таблеток антигипертензивных препаратов лизиноприла и Де-Криз[®].

Для достижения поставленной цели предстояло решить следующие задачи:

1. На основании технологических и биофармацевтических исследований разработать составы и технологию таблетированных лекарственных форм лизиноприла и Де-Криз[®].

2. Провести сравнительные исследования биоэквивалентности в опытах «in vitro» разработанных и оригинальных препаратов.

3. Разработать методики анализа, нормативные показатели качества таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз[®] и провести валидацию.

4. Изучить стабильность таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз[®] в зависимости от вида упаковки и условий хранения.

5. Разработать комплект нормативной документации (фармакопейные статьи предприятия (ФСП) и опытно-промышленные регламенты (ОПР)) на таблетки лизиноприла и таблетки Де-Криз[®] с целью государственной регистрации и дальнейшего промышленного производства.

Научная новизна работы. В процессе комплексного исследования технологических свойств субстанции лизиноприла и смеси субстанций амлодипина и лизиноприла установлены их неудовлетворительные для прессования таблеток технологические свойства, необходимость введения вспомогательных веществ и использования метода влажного гранулирования. На основании изучения влияния вида и количества вспомогательных веществ с помощью математического планирования эксперимента разработаны оптимальные составы и рациональная технология производства таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз[®].

При изучении кинетики высвобождения действующих веществ в опытах «in vitro», острой и субхронической токсичности разработанных таблеток лизиноприла и Де-Криз[®] в сравнении с оригинальными препаратами установлены их биоэквивалентность и эквитоксичность.

Разработаны методики количественного определения действующих веществ и посторонних примесей методом ВЭЖХ в таблетках лизиноприла и таблетках Де-Криз[®]. Проведенная валидация разработанных методик доказала их пригодность для практического использования.

Условия хроматографирования из методик количественного определения действующих веществ в таблетках лизиноприла и таблетках Де-Криз[®] распространены на следующие показатели качества в проектах ФСП: подлинность, тест «Растворение» и однородность дозирования.

Практическая значимость работы и внедрение результатов исследования.

1. Разработаны и апробированы с положительным результатом в промышленных условиях ЗАО «Медисорб»:

- состав, технология, ОПР и методики стандартизации на Лизиноприл, таблетки 5 мг, 10 мг и 20 мг (акт апробации от 10.10.2011 г., ОПР № 24062052-122-2009 и акт апробации от 13.12.2011 г. соответственно);

- состав, технология, ОПР и методики стандартизации на Де-Криз[®], таблетки 5 мг + 10 мг и 10 мг + 20 мг (акт апробации от 14.03.2012 г., ОПР № 24062052-167-2013 и акт апробации от 20.04.2012 г. соответственно).

2. Разработаны и представлены в Департамент государственного регулирования обращения лекарственных средств Министерства здравоохранения РФ с целью государственной регистрации:

- ФСП на Лизиноприл, таблетки 5 мг, 10 мг и 20 мг;

- ФСП на Де-Криз[®], таблетки 5 мг + 10 мг и 10 мг + 20 мг.

3. Получены разрешения на проведение клинических исследований:

- № 237 от 08.04.2013 г. на Лизиноприл, таблетки 20 мг;

- № 246 от 10.04.2013 на Де-Криз[®], таблетки 10 мг + 20 мг.

4. Материалы диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической химии факультета очного обучения ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России (акт внедрения от 09.09.2013 г.).

Апробация работы. Результаты и основные положения диссертационной работы доложены на Ежегодной конференции «Фармация и общественное здоровье» (Екатеринбург, 2010), 68-й Открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2010), XVIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2011), IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биотехнология и биомедицинская инженерия» (Курск, 2011), Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации» (Пермь, 2011), V Международной конференции «Фармация и общественное здоровье» (Екатеринбург, 2012), 70-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным

участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2012), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки» (Ярославль, 2013), 80-ой Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицины» (Иркутск, 2013).

Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации, заключается в том, что он на 90 % является основным исполнителем исследований. Определение острой и субхронической токсичности разработанных препаратов (остальные 10 % исследований) проводилось на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России без непосредственного участия автора. При выполнении работы автор освоил и самостоятельно выполнил все методики исследования (кроме исследования токсичности препаратов), провел обработку данных с использованием современных статистических методов, написал публикации по теме диссертации.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 9 статей, из которых 3 – в изданиях, рекомендованных ВАК.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России (номер государственной регистрации – 01.9.50.007417). Тема утверждена на заседании научно-координационного совета ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России (протокол № 3 от 24.11.2011 г.).

Положения, выносимые на защиту:

- результаты выбора оптимального состава и технологии таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз[®];
- результаты биофармацевтического изучения исследуемых таблеток;
- методики стандартизации таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз[®];
- экспериментальные данные по изучению стабильности таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз[®].

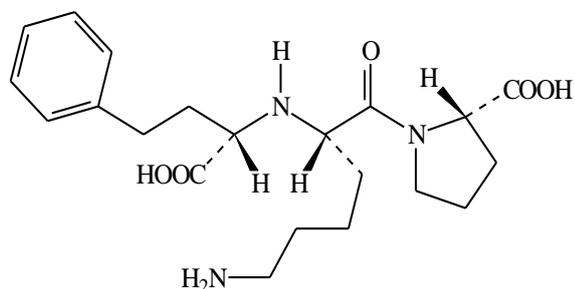
Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формулам специальностей 14.04.01

– технология получения лекарств и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследования специальностей, конкретно пунктам 3, 4 и 6 паспорта «технология получения лекарств» и пунктам 2 и 3 паспорта «фармацевтическая химия, фармакогнозия».

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (главы 2-5), общих выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 256 страницах машинописного текста (из них 69 страниц приложения), содержит 78 таблиц, 40 рисунков, 216 библиографических источников, из которых 122 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

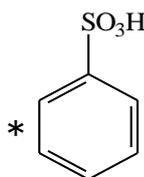
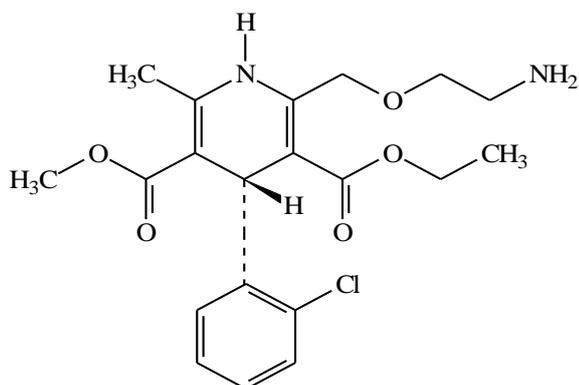
Изучение технологических свойств лизиноприла и смеси амлодипина и лизиноприла. Субстанция лизиноприла дигидрата произведена компанией «Юнимарк Ремедис Лтд.», Индия (серия LIS-0330509) и отвечала требованиям НД ЛСР-001435-250511.



*2H₂O

Лизиноприла дигидрат - (2S)-1-[(2S)-6-амино-2-[[[(1S)-1-карбоксо-3-фенилпропил]амино]гексаноил]пирролидин-2-карбоновой кислоты дигидрат

Субстанция амлодипина бесилата произведена компанией «Копалле Фарма Кемикалз Пвт. Лтд.», Индия (серия АВ 150308) и отвечала требованиям НД 42-12723-02.



Амлодипина бесилат - 3-этилового 5-метилового-(4RS)-2-[(2-аминоэтокси)метил]-4-(2-хлорфенил)-6-метил-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоновой кислоты бензолсульфонат

Основные технологические свойства субстанции лизиноприла и смеси субстанций амлодипина и лизиноприла представлены в табл. 1.

Таблица 1 - Технологические свойства субстанции лизиноприла и смеси субстанций амлодипина и лизиноприла

Характеристики, единицы измерения	Результаты	
	Субстанция лизиноприла	Смесь субстанций амлодипина и лизиноприла
Остаточная влажность, %	8,29±0,19	4,69±0,19
Сыпучесть без вибрации, г/с	Отсутствует	Отсутствует
Сыпучесть с вибрацией, г/с	1,47±0,13	1,72±0,25
Насыпная плотность, г/см ³	0,218±0,003	0,302±0,011
Прочность на истирание, %	99,46±0,50	99,37±0,86
Прочность на сжатие, Н	170,3±17,8	120,1±8,3
Распадаемость, с	1160±65	148±16

Анализ данных табл. 1 показал, что субстанция лизиноприла обладает плохой сыпучестью, низкой насыпной плотностью и неудовлетворительной распадаемостью, а смесь субстанций амлодипина и лизиноприла - плохой сыпучестью и низкой насыпной плотностью. Поэтому, для достижения технологичности процесса прессования таблетлируемой смеси необходимо введение в таблеточную массу связующих, разрыхляющих и антифрикционных веществ.

Разработка состава и технологии таблеток лизиноприла. На основании данных литературы и предварительных исследований по выбору связующего вещества нами было установлено, что в качестве гранулирующего агента наиболее рационально использовать поливинилпирролидон (ПВП). С целью уточнения концентрации ПВП и выбора наиболее оптимальных разрыхляющих и антифрикционных веществ нами было использовано математическое планирование эксперимента методом латинского квадрата 3х3. В качестве факторов были взяты:

- концентрация связующего вещества (ПВП);
- разрыхляющие вещества (крахмал картофельный, крахмал кукурузный и натрия кроскармеллоза (вивасол));
- антифрикционные (скользящие) вещества (кальция стеарат, магния стеарат и смесь кальция стеарата и магния стеарата и талька).

Было приготовлено 9 составов.

Параметрами оптимизации явились насыпная плотность без уплотнения и с уплотнением, сыпучесть без вибрации и с вибрацией, механическая прочность на истирание, механическая прочность на сжатие, распадаемость.

Анализ экспериментальных данных показал, что с введением вспомогательных веществ улучшились сыпучесть, насыпная плотность и распадаемость. Таблетки всех составов удовлетворяют требованиям ГФ XI по тестам «распадаемость» и «прочность на истирание».

На основании анализа результатов функции желательности для дальнейших исследований был выбран состав таблеток № 5.

На выбранном составе таблеток проводили дальнейшие исследования по изучению влияния остаточной влажности гранулята и давления прессования таблеток. Оптимальное значение остаточной влажности не должно превышать 2 %, а давление прессования должно находиться в интервале от 60 до 90 МПа.

Изучение кинетики высвобождения проводили на разработанных таблетках и таблетках Ирумед® («БЕЛУПО») с дозировкой 5 мг, 10 мг и 20 мг по методике ОФС 42-0003-04 «Растворение» на аппарате типа «вращающаяся корзинка» по разработанной методике. Кинетика высвобождения лизиноприла из таблеток приведена на примере таблеток с дозировкой 5 мг (рис. 1).

На основании полученных данных были рассчитаны основные параметры кинетики высвобождения лизиноприла из таблеток: период полурасстворения лизиноприла (составил от 2,6 до 3,1 мин), коэффициент различия (f_1) (4,91 – 5,57) и коэффициент подобия (f_2) (58,20 – 64,82). Согласно полученным данным, профили растворения таблеток сопоставимы по коэффициентам различия и подобия, следовательно, разработанные таблетки биоэквивалентны таблеткам Ирумед® фирмы «БЕЛУПО».

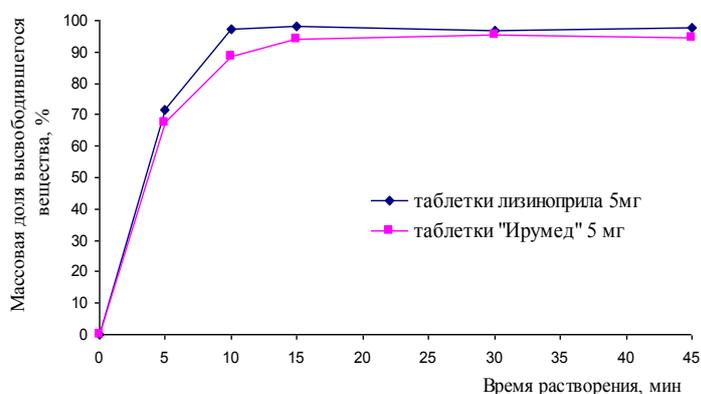


Рис. 1. Кинетика высвобождения лизиноприла из таблеток 5 мг производства ЗАО «Медисорб» и таблеток Ирумед® «БЕЛУПО»

Результаты исследований острой токсичности разработанных таблеток в сравнении с оригинальным препаратом Ирумед[®] показали, что в пересчете на общую массу таблеток величина среднесмертельной дозы составляет приблизительно 4800 мг/кг, что позволяют отнести препарат Лизиноприл к IV классу малотоксичных лекарственных веществ, а результаты субхронической токсичности показали эквитоксичность разработанных таблеток и таблеток Ирумед[®].

Разработка состава и технологии таблеток Де-Криз[®]. На основании данных литературы и предварительных исследований в качестве связующих были выбраны раствор ПВП, вода очищенная и раствор оксипропилметилцеллюлозы (ОПМЦ). Для уточнения вида связующего вещества, выбора разрыхляющего вещества и его концентрации нами было использовано математическое планирование эксперимента методом латинского квадрата 3×3. В качестве факторов были взяты:

- связующие вещества (ПВП, вода очищенная и ОПМЦ);
- разрыхляющие вещества (смесь натрия кроскармеллозы (вивасол) и крахмала картофельного в соотношении 1 : 1, натрия кроскармеллоза (вивасол) и крахмал картофельный);
- концентрация разрыхляющих веществ (от 1% до 7 %).

Было приготовлено 9 составов.

Параметрами оптимизации явились насыпная плотность без уплотнения и с уплотнением, сыпучесть без вибрации и с вибрацией, механическая прочность на истирание, механическая прочность на сжатие, распадаемость.

Анализ экспериментальных данных показал, что с введением вспомогательных веществ улучшились сыпучесть, насыпная плотность и распадаемость. Таблетки всех составов удовлетворяют требованиям ГФ XI по тестам «распадаемость» и «прочность на истирание».

На основании анализа результатов функции желательности состав таблеток № 1 был выбран для дальнейших исследований.

На выбранном составе таблеток проводили дальнейшие исследования по изучению влияния остаточной влажности гранулята и давления прессования таблеток. Оптимальное значение остаточной влажности не должно превышать 2 %, а давление прессования должно находиться в интервале от 60 до 90 МПа.

Изучение кинетики высвобождения проводили на разработанных таблетках и таблетках Экватор[®] (ОАО «Гедеон Рихтер») с дозировкой 5 мг +

10 мг и 10 мг + 20 мг по методике ОФС 42-0003-04 «Растворение» на аппарате типа «вращающаяся корзинка» по разработанной методике. Кинетика высвобождения амлодипина и лизиноприла из таблеток приведена на примере таблеток с дозировкой 5 мг + 10 мг (рис. 2).

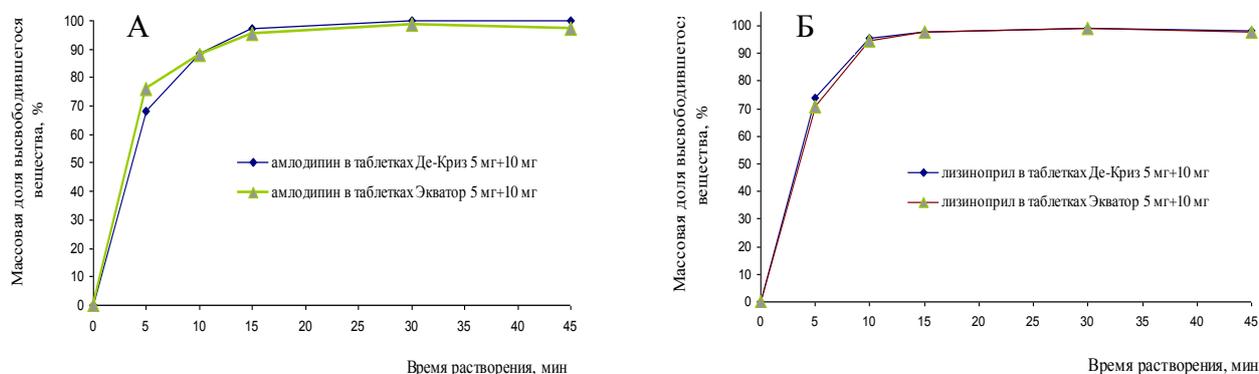


Рис. 2. Кинетика высвобождения амлодипина (А) и лизиноприла (Б) из таблеток 5 мг + 10 мг производства ЗАО «Медисорб» и ОАО «Гедеон Рихтер»

На основании полученных данных были рассчитаны основные параметры кинетики высвобождения амлодипина и лизиноприла из таблеток: период полурасстворения (для амлодипина составляет от 2,6 до 3 мин, для лизиноприла – от 2,4 до 2,8 мин), коэффициент различия (f_1) (для амлодипина - 2,70 – 3,33, для лизиноприла – 1,03 – 2,44) и коэффициент подобия (f_2) (для амлодипина - 69,22 – 76,42, для лизиноприла – 74,38 – 87,83). Согласно полученным данным, профили растворения таблеток сопоставимы по коэффициентам различия и подобия, следовательно, разработанные таблетки биоэквивалентны таблеткам Экватор® фирмы «Гедеон Рихтер».

Результаты исследований острой токсичности разработанных таблеток в сравнении с оригинальным препаратом Экватор® показали, что в пересчете на общую массу таблеток величина среднесмертельной дозы составляет приблизительно 4200 мг/кг, что позволяют отнести препарат Де-Криз® к IV классу малотоксичных лекарственных веществ, а результаты субхронической токсичности показали эквитоксичность разработанных таблеток и таблеток Экватор®.

Разработка методик стандартизации таблеток лизиноприла 5 мг, 10 мг и 20 мг. Предварительные исследования по использованию спектрофотометрического метода показали, что раствор вспомогательных веществ поглощает УФ-свет в области поглощения лизиноприла, а отделение их не представляется воз-

возможным. В связи с этим, для дальнейших исследований мы выбрали метод ВЭЖХ.

В результате экспериментальных исследований подобраны оптимальные условия хроматографирования: неподвижная фаза - хроматографическая колонка Zorbax SB-C₁₈ размером 250×4,6 мм и диаметром частиц 5 мкм, подвижная фаза - ацетонитрил для хроматографии – фосфатный буферный раствор pH 7,0 с добавлением тетрабутиламмоний гидросульфат. Детектирование осуществляли в УФ-области при длине волны 210 нм, скорость потока элюента – 1,0 мл/мин, температура термостата колонок – 50 °С, объем вводимой пробы – 20 мкл.

Результат хроматографирования испытуемого раствора таблеток представлен на рис. 3.

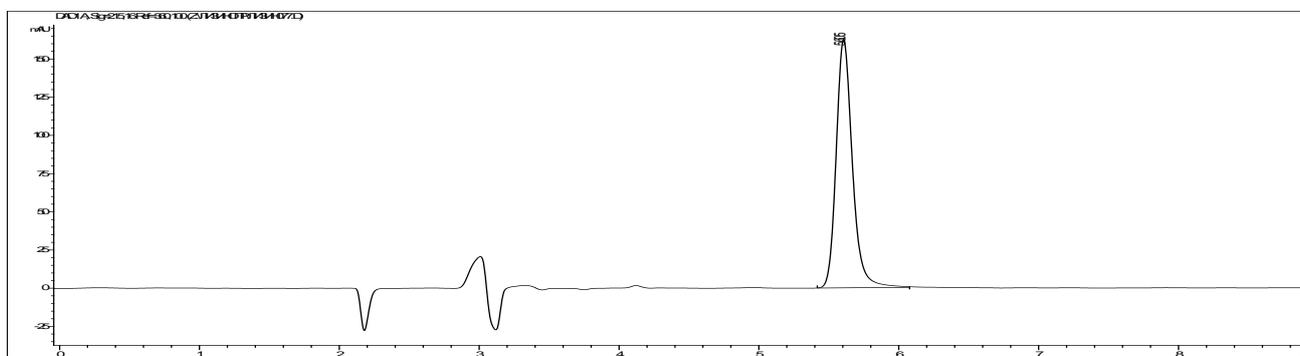


Рис. 3. Хроматограмма испытуемого раствора таблеток лизиноприла

Основным продуктом разложения лизиноприла в процессе хранения является лизиноприла дикетопиперазин, который образуется в результате внутримолекулярной циклизации между соседними остатками молекул аминокислот.

В приведенных выше условиях наблюдалось удовлетворительное разделение пиков лизиноприла и лизиноприла дикетопиперазина (рис. 4), поэтому они также использовались и при определении посторонних примесей.

Валидационную оценку разработанных методик количественного определения и посторонних примесей проводили по следующим показателям: специфичность, пригодность хроматографической системы, предел количественного определения, предел обнаружения, линейность, правильность, прецизионность (повторяемость и промежуточная прецизионность).

Методика специфична, т.к. пики лизиноприла и лизиноприла дикетопиперазина хорошо отделены друг от друга, от системных пиков и пиков вспомо-

гательных веществ (рис. 4). Время удерживания лизиноприла около 5,5 мин, а лизиноприла дикетопиперазина – около 9,5 мин.

Показатели ППХС приведены в таблице 2.

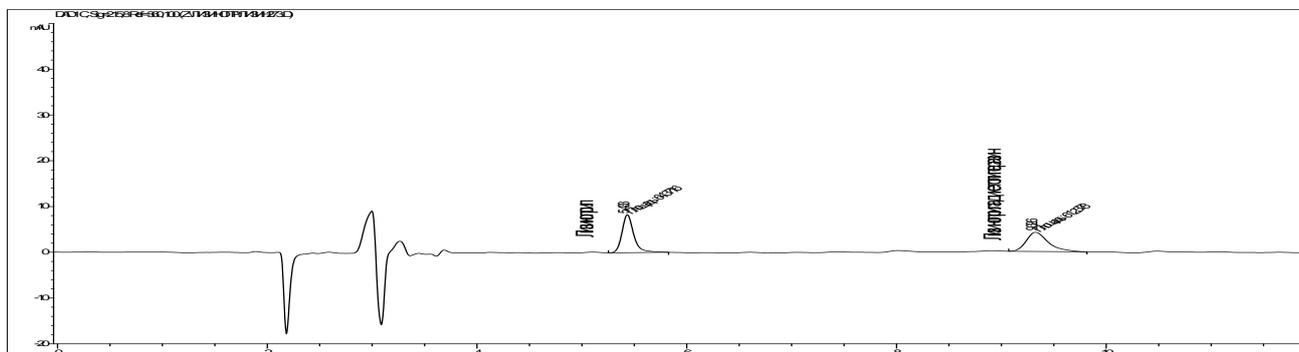


Рис. 4. Хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы (ППХС)

Таблица 2 – Параметры ППХС

Параметр	Лизиноприл	Лизиноприла дикетопиперазин
Коэффициент симметрии пика	0,81 – 0,84	0,93 – 0,96
Эффективность хроматографической колонки, т.т.	12 145 – 12 671	10 373 – 10 811
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	0,53	0,37
Коэффициент разделения пиков	13,79	

Нами установлено, что аналитическая область методики находится в пределах от 25 до 200 % от нормируемого содержания или от 54,4 до 435,2 мкг/мл ($r = 0,9999$), предел количественного определения лизиноприла составляет 10,15 мкг/мл.

Оценку правильности методики проводили на модельных смесях, содержащих лизиноприл в количествах 70 %, 100 % и 130 % от содержания в таблетке. Полученные метрологические характеристики показали, что относительное стандартное отклонение (RSD) не превышает 0,15 %, значения открываемости (R) находятся в интервале 99,41 – 100,63 % и не выходят за пределы, рекомендованные для методики количественного определения (не более 2,0 % и (100 ± 2) % соответственно).

Для определения прецизионности использовали модельную смесь таблеток лизиноприла 10 мг. Полученные метрологические характеристики показывают, что RSD результатов первого и второго инженера-химика равно

1,05 % и 0,99 % соответственно и не превышает 2 %. Рассчитанные критерии Стьюдента составили 0,272 и 1,411 соответственно, критерий Фишера – 1,14, что не превышает табличных значений.

Предел обнаружения лизиноприла дикетопиперазина составляет 0,246 мкг/мл, что соответствует 0,11 % от концентрации лизиноприла в испытуемом растворе.

Содержание примесей в таблетках лизиноприла определяли методом нормализации площадей в испытуемом растворе для количественного определения.

Из полученных результатов следует, что разработанная методика может быть рекомендована для количественного определения лизиноприла и его посторонних примесей. Хроматографические условия количественного определения использованы также при разработке тестов «Подлинность», «Растворение» и «Однородность дозирования» таблеток.

Определение срока годности препарата проводили на пяти сериях таблеток, упакованных в банки полимерные с натягиваемой крышкой и в контурную ячейковую упаковку из пленки поливинилхлоридной и фольги алюминиевой печатной лакированной. Упакованные таблетки хранились в условиях естественного хранения в сухом защищенном от света месте при температуре (25 ± 2) °С. На рис. 5 на примере экспериментальной серии таблеток Лизиноприл 20 мг (сер. Экспериментальня 01012009) показано содержание примесей до закладки таблеток на хранение, через 3 года естественного хранения и требования, заложенные в проект ФСП.

Полученные результаты показали, что таблетки в указанных видах упаковки стабильны в течение 3 лет.

Разработка методики количественного определения амлодипина и лизиноприла в таблетках Де-Криз[®] 5 мг + 10 мг и 10 мг + 20 мг. Предварительные исследования по использованию спектрофотометрического метода показали, что раствор вспомогательных веществ поглощает УФ-свет в области поглощения лизиноприла, а отделение их не представляется возможным. В связи с этим, для дальнейших исследований мы использовали метод ВЭЖХ.

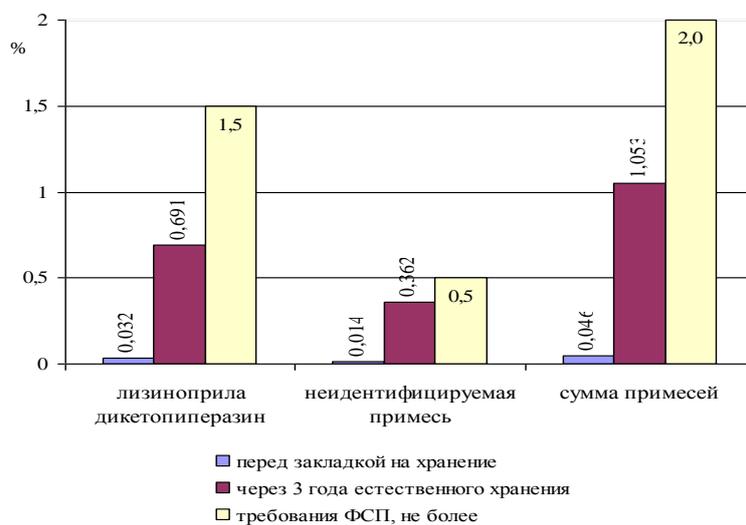


Рис. 5. Содержание посторонних примесей в таблетках лизиноприла 20 мг (сер. Экспериментальная 01012009) в условиях естественного хранения в контурной ячейковой упаковке из пленки поливинилхлоридной и фольги алюминиевой лакированной

В результате экспериментальных исследований были подобраны оптимальные условия хроматографирования: неподвижная фаза - хроматографическая колонка Zorbax Eclipse XDB-C₈ размером 150×4,6 мм и диаметром частиц 5 мкм, подвижная фаза - вода для хроматографии - метанол для жидкостной хроматографии - ацетонитрил для хроматографии - 0,15 М раствор триэтиламина рН 3,5 в режиме линейного градиента. Детектирование осуществляли в УФ-области при длине волны 210 нм, скорость потока элюента – 1,5 мл/мин, температура термостата колонок – 50 °С, объем вводимой пробы – 20 мкл.

Валидационную оценку разработанной методики количественного определения проводили по следующим показателям: специфичность, пригодность хроматографической системы, предел количественного определения, линейность, правильность, прецизионность (повторяемость и промежуточная прецизионность).

Методика специфична, т.к. пики амлодипина и лизиноприла на хроматограмме испытуемого раствора таблеток хорошо отделены от системных пиков (из растворителя образца), и пиков, соответствующих вспомогательным веществам (рис. 6). Показатели проверки пригодности хроматографической системы приведены в таблице 3.

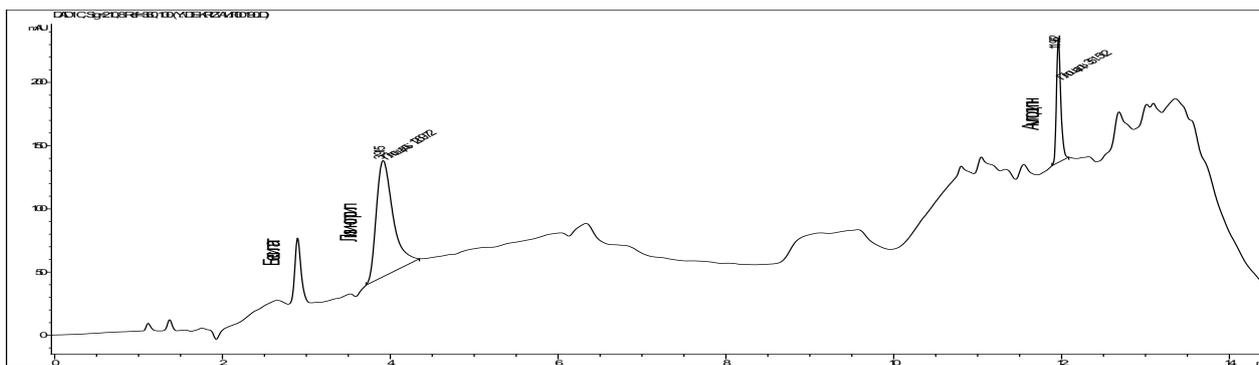


Рис. 6. Хроматограмма испытуемого раствора таблеток Де-Криз[®]

Таблица 3 - Параметры проверки пригодности хроматографической системы

Параметр	Амлодипин	Лизиноприл
Коэффициент симметрии пика	0,86 – 0,94	0,83 – 0,88
Эффективность хроматографической колонки, т.т.	288 635 – 297 078	2042 – 2128
Относительное стандартное отклонение, %	1,03	0,68
Коэффициент разделения пиков	34,97	

Аналитическая область разработанной методики находится в пределах от 25 до 200 % от нормируемого содержания или от 4,75 до 38 мкг/мл амлодипина ($r = 0,998$) и от 9 до 72 мкг/мл лизиноприла ($r = 0,995$). Предел количественного определения амлодипина составляет 0,18 мкг/мл, лизиноприла - 1,77 мкг/мл.

Оценку правильности методики проводили на модельных смесях, содержащих амлодипин и лизиноприл в количествах 70 %, 100 % и 130 % от содержания в таблетке. Полученные метрологические характеристики показали, что RSD не превышает 0,41 % для амлодипина и 0,17 % для лизиноприла; значения R для амлодипина находятся в интервале 100,16 – 100,84 %, для лизиноприла – 99,85 – 100,69 %.

Для определения прецизионности использовали модельную смесь таблеток Де-Криз[®] 10 мг + 20 мг. Полученные метрологические характеристики показывают, что RSD результатов обоих инженеров-химиков для амлодипина составляет 0,52 и 0,49 %, для лизиноприла – 0,32 и 0,35 %, что не превышает 2 %. Рассчитанный критерий Стьюдента для амлодипина составил 1,16 и 1,71 соответственно, для лизиноприла – 1,41 и 1,85 соответственно, что не превышает табличных значений. Рассчитанный критерий Фишера для амлодипина и лизиноприла составил 1,14 и 1,20 соответственно, что не превышает табличных значений.

Из полученных результатов следует, что разработанная методика может быть рекомендована для совместного количественного определения

амлодипина и лизиноприла. Методика количественного определения использована также при разработке тестов «Подлинность», «Растворение» и «Однородность дозирования» таблеток.

Разработка методики анализа посторонних примесей в таблетках Де-Криз® 5 мг + 10 мг и 10 мг + 20 мг.

В качестве основных нормируемых примесей использовали продукты деградации в процессе хранения – лизиноприла дикетопиперазин и продукт окисления амлодипина. В связи с тем, что фармакопейный стандарт продукта окисления амлодипина отсутствует, его получали в лабораторных условиях. Для этого использовали выдерживание СО амлодипина при дневном свете, под УФ-лампой и окисление калия перманганатом. Из представленных вариантов было выбрано окисление калия перманганатом.

В результате экспериментальных исследований были подобраны оптимальные условия хроматографирования: неподвижная фаза - хроматографическая колонка Zorbax SB-C₁₈ размером 250×4,6 мм и диаметром частиц 5 мкм, подвижная фаза - вода для хроматографии - ацетонитрил для хроматографии - 0,15 М раствор триэтиламина рН 4,5 в режиме линейного градиента. Детектирование осуществляли в УФ-области при длине волны 210 нм и 235 нм, скорость потока элюента – 1,4 мл/мин, температура термостата колонок – 50 °С, объем вводимой пробы – 20 мкл.

Методика специфична, т.к. пики амлодипина, лизиноприла, продукта окисления амлодипина и лизиноприла дикетопиперазина на хроматограмме раствора ППХС хорошо отделены друг от друга, от системных пиков (из растворителя образца) и пиков вспомогательных веществ (рис. 7). Показатели проверки пригодности хроматографической системы приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Параметры ППХС

Параметр	Лизиноприл	Лизиноприла дикетопиперазин	Продукт окисления амлодипина	Амлодипин
Коэффициент симметрии пика	1,02 – 1,06	0,93 – 0,96	0,84 – 0,85	0,85 – 0,88
Эффективность хроматографической колонки, т.т.	1038 – 1069	114 589 – 115 111	556 583 – 558 012	651 787 – 653 921
RSD, %	1,16	0,58	0,64	1,03
Коэффициент разделения пиков	27,88		17,73	

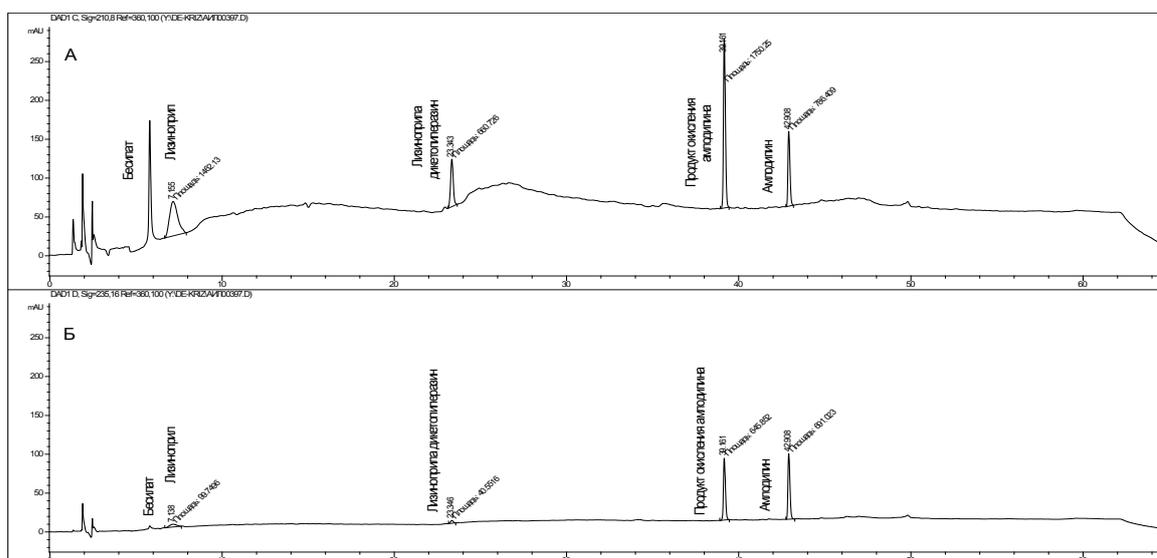


Рис. 7. Хроматограмма раствора ППХС

А – хроматограмма, полученная при 210 нм;

Б – хроматограмма, полученная при 235 нм.

Содержание посторонних примесей в таблетках Де-Криз[®] определяли методом внешнего стандарта.

Определение срока годности препарата проводили на пяти сериях таблеток, упакованных в банки полимерные с натягиваемой крышкой и в контурную ячейковую упаковку из пленки поливинилхлоридной и фольги алюминиевой печатной лакированной. Упакованные таблетки хранились в условиях естественного хранения в сухом защищенном от света месте при температуре (25 ± 2) °С. На рис. 8 на примере экспериментальной серии таблеток Де-Криз[®] 10 мг + 20 мг (сер. Экспериментальная 01012009) показано содержание примесей до закладки таблеток на хранение и через 2 года естественного хранения и требования, заложенные в проект ФСП.

Полученные результаты показали, что таблетки в указанных видах упаковки стабильны в течение 2 лет.

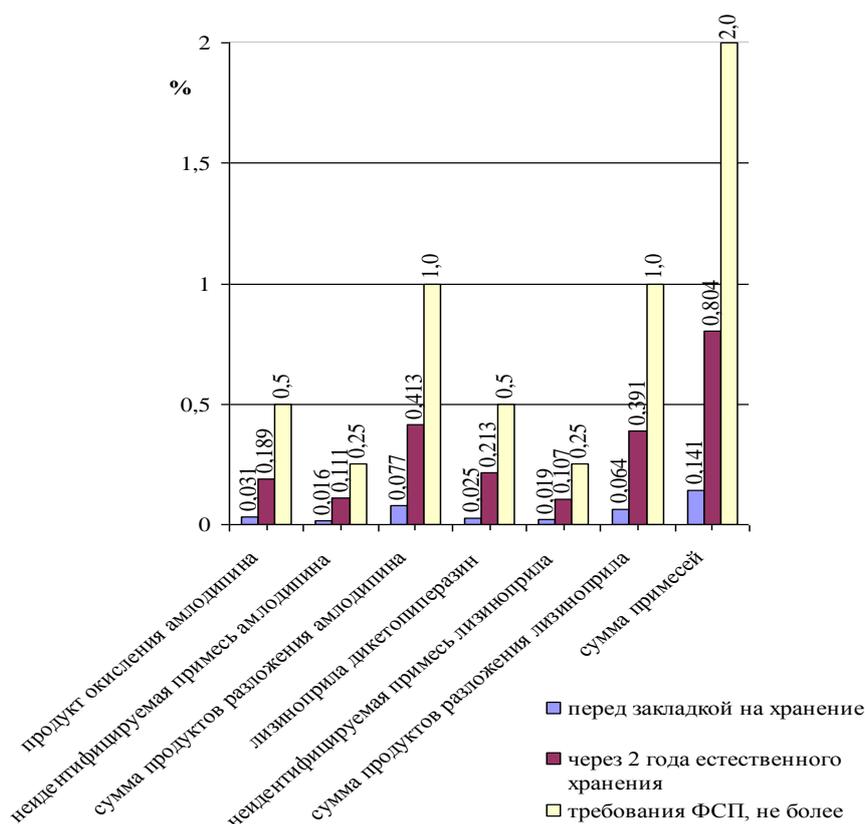


Рис. 8. Содержание посторонних примесей в таблетках Де-Криз[®] 10 мг + 20 мг (сер. Экспериментальная 01062010) в условиях естественного хранения в контурной ячейковой упаковке из пленки поливинилхлоридной и фольги алюминиевой печатной лакированной

ВЫВОДЫ

1. На основании комплекса технологических и биофармацевтических исследований разработаны оптимальные составы и рациональные технологии таблеток Лизиноприл 5 мг, 10 мг и 20 мг и таблеток Де-Криз[®] 5 мг + 10 мг и 10 мг + 20 мг с высокими показателями фармацевтической доступности.

2. На основании анализа полученных данных исследования кинетики высвобождения действующих веществ из таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз[®] в сравнении с оригинальными препаратами Ирумед[®] и Экватор[®] соответственно, рассчитаны коэффициенты различия (f_1) и коэффициенты подобия (f_2), которые подтвердили биоэквивалентность разработанных таблеток. Сравнительные исследования общетоксического действия разработанных

лекарственных препаратов лизиноприла и Де-Криз[®] и оригинальных Ирумед[®] и Экватор[®] соответственно на животных показали их эквитоксичность.

3. Разработаны методики анализа по показателям «Подлинность», «Растворение», «Посторонние примеси», «Однородность дозирования» и «Количественное определение» для таблеток Лизиноприл 5 мг, 10 мг и 20 мг и Де-Криз[®] 5 мг + 10 мг и 10 мг + 20 мг[®] методом ВЭЖХ и проведена их валидация. Значения открываемости (R) методик отвечают установленным требованиям ($100 \pm 2,0$) %. Установлены нормативные показатели примесей для таблеток лизиноприла: лизиноприла дикетопиперазина – не более 1,5 %, любой другой неидентифицируемой примеси – не более 0,5 %, суммарное содержание примесей – не более 2,0 %; для таблеток Де-Криз[®]: лизиноприла дикетопиперазина – не более 0,5 %, продукта окисления амлодипина – не более 0,5 %, любой другой неидентифицируемой примеси – не более 0,25 %, суммарное содержание продуктов разложения лизиноприла – не более 1,0 %, суммарное содержание продуктов разложения амлодипина – не более 1,0 %, суммарное содержание примесей – не более 2,0 %.

4. По результатам исследований стабильности разработанных препаратов в условиях естественного хранения при температуре $(25 \pm 2)^\circ \text{C}$ в сухом, защищенном от света месте в контурной ячейковой упаковке из пленки поливинилхлоридной и фольги алюминиевой печатной лакированной и банках полимерных с натягиваемыми крышками показано, что вид упаковки при данных условиях хранения на стабильность препаратов не влияет. Установлен срок годности для таблеток Лизиноприл 5 мг, 10 мг и 20 мг - 3 года, для таблеток Де-Криз[®] 5 мг + 10 мг и 10 мг + 20 мг[®] – 2 года.

5. На основании проведенных исследований разработан комплект нормативной документации (ОПР и проект ФСП). На Лизиноприл таблетки 5 мг, 10 мг и 20 мг и Де-Криз[®] таблетки 5 мг + 10 мг и 10 мг + 20 мг сформировано и представлено в Департамент государственного регулирования обращения лекарственных средств Министерства здравоохранения РФ регистрационное досье с целью регистрации и дальнейшего промышленного производства таблеток. На разработанные препараты получены разрешения на проведение клинических исследований, препараты проходят клинические исследования.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Иванцов, Е. Н. Выбор подвижной фазы при разработке методики количественного определения лизиноприла дигидрата в таблетках лизиноприла / Е. Н. Иванцов, Г.П. Вдовина // Фармация и общественное здоровье: сб. ст. ежегодн. конф. (Екатеринбург, 25 февр. 2010 г.) – Екатеринбург, 2010. – С. 171–173.
2. Иванцов, Е. Н. Сравнительная оценка динамики высвобождения лизиноприла из таблеток / Е. Н. Иванцов // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины : материалы 68-й открытой науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием, посвящ. 75-летию ВолГМУ (Волгоград, 9-13 сент. 2010 г.). – Волгоград, 2010. – С. 310–311.
3. Иванцов, Е. Н. Сравнительная оценка биодоступности таблеток лизиноприла 20 мг и таблеток «Диротон» 20 мг в опытах «in vitro» / Е. Н. Иванцов, Г. П. Вдовина // Человек и лекарство : материалы XVIII Рос. нац. конгр (Москва, 11-15 апр. 2011 г.). – Москва, 2011. – С. 600.
4. Иванцов, Е. Н. Валидация методики количественного определения лизиноприла дигидрата в таблетках лизиноприла 5 мг, 10 мг и 20 мг производства ЗАО «Медисорб» / Е. Н. Иванцов, Г. П. Вдовина // Биотехнология и биомедицинская инженерия : сб. материалов. IV Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Курск, 15-16 июн. 2011 г.). – Курск, 2011. – С. 176–178.
5. Иванцов, Е. Н. Разработка и валидация методики количественного определения лизиноприла в таблетках 5 мг, 10 мг и 20 мг производства ЗАО «Медисорб» / Е. Н. Иванцов, Т. И. Ярыгина, Г. П. Вдовина // Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации : материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 75-летию Пермской госуд. фармацевт. акад. (Пермь, 7-9 дек. 2011 г.). – Пермь, 2011. – С. 80–82.
6. Иванцов, Е. Н. Исследование стабильности препарата Лизиноприл таблетки 5 мг, 10 мг и 20 мг в процессе ускоренного хранения / Е. Н. Иванцов, Т. И. Ярыгина, Г. П. Вдовина // Фармация и общественное здоровье : материалы V междунар. конф. (Екатеринбург, 18 апр. 2012 г.). – Екатеринбург, 2012. – С. 33–35.
7. Изучение факторов, влияющих на качество таблеток лизиноприла / Е. Н. Иванцов, Г.П. Вдовина, М.П. Чугунова, Т.И. Ярыгина // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины : материалы юбилейной 70-й открытой науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием (Волгоград, 11-14 апр. 2012 г.) – Волгоград, 2012. – С. 512.

8. Сравнительная оценка острой токсичности лекарственных препаратов лизиноприла разных производителей / Е. Н. Иванцов, Г.П. Вдовина, В.К. Данилова, Т.И. Ярыгина // Перм. мед. журн. – 2012. – Т. 29, № 1. – С. 86–89.

9. Валидация методики определения лизиноприла в таблетках / Е. Н. Иванцов, Т.И. Ярыгина, Г.П. Вдовина, Н.Ю. Рожкова // Фармация. – 2012. – № 8. – С. 7–8.

10. Иванцов, Е. Н. Разработка методики определения посторонних примесей в таблетках лизиноприла / Е. Н. Иванцов // Актуальные вопросы медицинской науки : сб. науч. работ студентов и молодых ученых Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвященной 85-летию профессора Е.Н. Дормидонтова (Ярославль). – Ярославль, 2013. – С. 238–239.

11. Иванцов, Е. Н. Изучение факторов, влияющих на качество таблеток Де-Криз[®] / Е. Н. Иванцов, М. П. Чугунова // Актуальные вопросы современной медицины : материалы 80-ой юбилейной Всерос. Байкальской науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием (Иркутск, 22-24 апр. 2013 г). – Иркутск, 2013. – С. 410.

12. Иванцов, Е. Н. Определение подлинности и линейности методики количественного определения амлодипина и лизиноприла в комбинированном препарате Де-Криз[®] 5 мг + 10 мг и 10 мг + 20 мг / Е.Н. Иванцов // Вестн. Перм. гос. фармац. акад. – 2013. – Т. 1, № 10. – С. 79–80.

13. Иванцов, Е. Н. Исследования в области разработки технологии таблеток Де-Криз[®] [Электронный ресурс] / Е. Н. Иванцов, М. П. Чугунова, Г. П. Вдовина. – Электрон. дан. // Современ. пробл. науки и образования. – 2013. – № 5. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/111-10587>.

Иванцов Евгений Николаевич (Россия)

Разработка состава, технологии и методик анализа лекарственных препаратов гипотензивного действия лизиноприл и Де-Криз®

Изучены технологические свойства субстанции лизиноприла и смеси субстанций амлодипина и лизиноприла. Разработан состав и условия прессования таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз® с использованием математического планирования эксперимента методом латинского квадрата 3×3 , дисперсного анализа, функции желательности и рангового критерия Дункана. Проведены исследования по изучению острой и субхронической токсичности таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз®. Разработаны методики количественного определения и посторонних примесей в разработанных таблетках, которые используются также при определении подлинности, растворения и однородности дозирования. Проведена валидация методов контроля качества таблеток лизиноприла и таблеток Де-Криз®. Установлены сроки годности разработанных препаратов.

Ivantsov Evgeniy (Russia)

Development of formulation, technology and methods of analysis dosage formulations hypotensive action lisinopril and De-Kriz®

Technological characteristics of lisinopril substance and mixture of amlodipine and lisinopril substances have been studied. The composition and compressing conditions of have been developed. The mathematical planning of experiment by the method of latin square 3×3 , dispersed analysis, function of desirability and rank criterion of Dunkan have been used. The investigations by research of cuspidal and sub-chronical toxicity of lisinopril and De-Kriz tablets have been carried out. The assay and related substances methods for work up drugs have been researched, which used for identification, solubility and uniformity of balancing methods. The validation of quality control methods for lisinopril and De-Kriz tablets have been performed. The shelf life of develop drugs is studied.