МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра промислової фармації

РЕФЕРАТ

до дипломної магістерської роботи (проєкту)

на тему

на тему: «Фармако-технологічні  та аналітичні дослідження лікарського засобу у формі супозиторіїв»

Виконала студентка ІІ курсу,

групи МгХФ-19

спеціальності

226 – Фармація, промислова фармація

Манацюк В.В.

Керівник к.ф.н, доц. Салій О.О.

Рецензент Гетало О.В.

Київ - 2020 р.

**Актуальність теми дослідження**. Відомо, що у педіатричній практиці парацетамол визнано золотим стандартом лікування підвищеної температури тіла у дітей. Вибір лікарської форми, як супозиторії, особливо обґрунтовано у випадках, коли у дитини підвищення температури тіла супроводжується ознаками інтоксикації (відмова від їжі, пиття, надмірна сонливість, блювання) та/або пероральна доставка лікарського засобу неможлива. Тому актуальним напрямком є оцінка якості лікарських засобів фармакопейними тестами фармако-технологічних показників та валідованими аналітичними методиками, які дозволяють отримувати коректні результати щодо вмісту діючої речовини~~,~~ а також вмісту нормованих супутніх домішок у супозиторіях для педіатричного застосування.

**Мета і завдання**. Метою даної роботи є фармацевтична розробка складу та специфікації контролю якості супозиторіїв, а також дослідити валідаційні характеристики методики кількісного визначення парацетамолу та його основної домішки методами спектрофотометрії та високоефективної рідинної хроматографії відповідно.

**Основні задачі дослідження***:*

1. Провести аналіз ринку лікарських засобів на основі парацетамолу, які застосовують у педіатрії.
2. Провести фармако-технологічні випробування згідно вимог ДФУ.
3. Провести аналітичні дослідження, а саме валідацію аналітичних методик визначення кількісного вмісту та основної домішки супозиторіїв з парацетамолом.
4. Розробити GMP–концепцію технологічного процесу виробництва лікарського засобу у формі супозиторіїв.

**Об’єкт дослідження***:* основна діюча речовина **-** парацетамол, допоміжна речовина – твердий жир, лікарська форма - супозиторії, технологічний процес.

**Предмет дослідження** *:*фізико-хімічні та фармако-технологічні властивості парацетамолу, валідаційні характеристики методики кількісного визначення парацетамолу та його основної домішки

**Методи дослідження***.* При проведенні досліджень були задіяні методи досліджень:

* Теоретичний (аналіз нормативної літератури, наукових праць та ін.);
* фізичні та фізико-хімічні методи аналізу згідно вимог ДФУ;
* фармако-технологічні випробування згідно вимог ДФУ.
* Аналітичні випробування методом СФ та ВЕРХ.
* Обробку результатів досліджень здійснювали статистичним методом.

**Наукова новизна роботи**. Якість досліджуваних супозиторіїв з парацетамолом доведено дослідженнями фарма-технологічних показників згідно сучасних вимог ДФУ. Розроблено і валідовано методики кількісного вмісту парацетамолу та його основної домішки у супозиторіях.

**Практична цінність *.*** Отримані результати експерименту свідчать, що за дослідженими валідаційними характеристиками методика коректна та може бути відтворена в інших лабораторіях.

Супозиторії є однією з лікарських форм, що найчастіше застосовуються, їх використовують при лікуванні захворювань урологічного, гінекологічного, проктологічного профілю тощо. Це пояснюється їх позитивними властивостями, відсутністю негативних ефектів, характерних для пероральних та ін’єкційних лікарських форм (інактивування ферментами травних соків, несприятливий вплив на шлунково-кишковий тракт і печінку), нижчим рівнем алергічних реакцій та ризиком інфекційних ускладнень, практично відсутністю стресового викиду гормонів, незмінністю показників гемодинаміки тощо, що робить перспективними їх подальше застосування в педіатрії та геріатрії, психіатрії, а також при серцево-судинній патології і захворюваннях органів травлення.

Актуальними на сьогодні є аналіз асортименту супозиторних ЛП та пропозицій фірм виробників, розширення номенклатури основ-носіїв, дослідження обмежень застосування даного лікарського засобу в педіатричній практиці. Сучасний стан фармацевтичного ринку України встановлює підвищені вимоги до фахівців, які працюють з лікарськими препаратами. Це стосується, насамперед, інформації про асортимент лікарських препаратів на ринку, їх ефективність, особливості використання та вікові обмеження щодо застосування супозиторіїв.

Аналіз фармацевтичного ринку ректальних супозиторних лікарських засобів станом на 01вересня 2020 р. показав, що в Україні зареєстровано 145 найменування, з них 32,4% (47ЛЗ) іноземного та 67,6% (98ЛЗ) – вітчизняного виробництва, з них у педіатрії зареєстровано 18 найменувань.

50 фармацевтичних компаній з 23 країн світу поставляють супозиторні ЛЗ на фармацевтичний ринок України. Лідерами є:

* Німеччина (11 фірм);
* Франція (6 фірм);
* Італія (5 фірм);
* Швейцарія (4 фірми);
* Україна (4 фірми) .

На сьогодні в Україні лише 4 фармацевтичних заводи випускають супозиторії: ТОВ «Фармекс Груп», ПАТ «ЛекхімХарків», ТОВ «НВК«Ітерфармбіотек» і ПАТ «Монфарм».

Відповідно до терапевтичної класифікаційної системи АТС (Anatomical Therapeutic Chemical) в асортименті супозиторіїв переважають препарати групи С05АХ03 (Інші засоби для лікування геморою та анальних тріщин для місцевого застосування; Інші препарати, комбінації) – 17 найменувань, N02BE01 (Парацетамол) – 8 найменувань та A06AX01 (Гліцерол) – 10 найменувань.

За терапевтичною дією, промисловістю виготовляється 31,7% супозиторіїв з лікарськими засобами місцевої дії і 68,3% – загальної дії; частка протигеморойних ЛЗ складає 16,8%, знеболюючих та жарознижуючих – 15,8%, проносних – 14,9%, антисептичних 10,9%, імуномодулюючих – 9,9%, репаративних – 6,9%, контрацептивних – 5,9%, протигрибкових – 5%, гомеопатичних, гормональних, місцево-анестезуючих, засоби, що використовуються при захворюваннях передміхурової залози – по 3%, спазмолітичної дії – 2%

Проаналізувавши літературні дані визначено, що для дітей потребує особливої уваги розробка лікарської форми. Часто застосовувані у педіатрії такі лікарські форми – пероральні розчини та супозиторії. Перспективною лікарською формою для дітей є супозиторії, їх основні переваги полягають у швидкому надходженні лікарських речовин до великого кола кровообігу при відсутності травмування шлунково-кишкового тракту і печінки; значне зниження алергічних проявів у відповідь на ректальне введення препарату; відсутність проблеми смаку, запаху ліків, можливість призначення лікарських речовин різних фармакологічних груп з різноманітними фізико-хімічними властивостями; простота і безболісність введення.

Досліджено, що у педіатричній практиці парацетамол залишається золотим стандартом лікування зниження температури тіла у дітей. Вибір лікарської форми, як супозиторії, особливо обґрунтовано у випадках, коли у дитини підвищення температури тіла супроводжується ознаками інтоксикації (відмова від їжі, пиття, надмірна сонливість, блювання) та/або пероральна доставка лікарського засобу неможлива. Тому і надалі залишається актуальним виробництво супозиторіїв з парацетамолом.

Вивчення вимог ДФУ та USP дозволило виявити певні розбіжності у підході до контролю якості супозиторіїв, що є цікавим як при розробці методів контролю якості для нових препаратів у формі супозиторіїв, так і в теоретичному порівнянні і впровадженні удосконалених вимог до якості даної лікарської форми

На основі аналізу сучасних тенденцій можна прогнозувати перспективні напрямки розвитку супозиторних лікарських форм: виявлення біохімічних процесів, що відбуваються під час дії лікарського засобу; створення лікарських форм із контрольованим вивільненням інгредієнтів, вибір супозиторної основи, враховуючи фізико-хімічні властивості й характерні особливості. На даний час активно проводяться дослідження зі створення нових основ із заданими властивостями.

Тому розробки сучасних лікарських засобів повинні бути спрямовані на зменшення подразнюючої дії ректальних лікарських форм, а також на розробку нових якісних, безпечних та ефективних лікарських форм для дітей.

**Матеріали та методи дослідження.**

Наважки субстанції парацетамолу, стандартних зразків і реактивів зважували на аналітичних вагах «Mettler Toledo XP105DR» (Швейцарія). Величину рН вимірювали рН-метром «Mettler Toledo Seven Multi S40» (Швейцарія). У роботі застосували посуд класу А фірми «Simax» (Чехія).

Спектрофотометричні вимірювання проводили на спектрофотометрі UV VIS Lambda 35 («Perkin Elmer», USA) в кюветах *l*=1 см. Хроматографічні роботи виконали з застосуванням ВЕРХ системи Separations Module Waters 2695 з УФ-детектором Waters 2489.

 В якості стандартного зразку парацетамолу (СЗ) використовували стандарт ЕР СRS, кат. № Р0300000, в якості стандартного зразку Paracetamol impurity K (СЗ) використовували 4-амінофенол виробництва Sigma-Aldrich (Німеччина), кат. № A71328 із заявленим вмістом основної речовини 99,5% (GC). В якості плацебо супозиторіїв з парацетамолом застосовували твердий жир (суміш тригліцеридів С12-С18), марки Suppocire NAS 50 («Gattefosse», Франція).

При вивченні валідаційних характеристик застосовували реактиви: вода очищена, яку отримали з установки Milli Q, виробництва Millipore Corporation (Німеччина), натрію гідроксид Sigma-Aldrich, кат. № 06203, натрію 1-бутансульфонат Sigma-Aldrich, кат. № 19022-10G-F; етанол 96%, метанол Sigma-Aldrich (чистота 99.9%), мурашина кислота Sigma-Aldrich, кат. № 33015.

Контрольовані валідаційні характеристики обрані відповідно до вимог ДФУ та рекомендацій ICH, а саме для методики кількісного визначення парацетамолу відвалідовано характеристики: максимально допустима невизначеність результату аналізу ΔAs, невизначеність пробопідготовки ΔSP, специфічність, лінійність, діапазон застосування, правильність; методику визначення вмісту домішки граничним випробуванням відвалідовано за характеристиками максимально допустима невизначеність результату аналізу ΔAs, специфічність, межа кількісного визначення. Розрахунки та статистичну обробку проводили згідно вимог ДФУ.

 Досліджували наступні методики:

Методика кількісного визначення парацетамолу у супозиторіях 80 мг/доза методом спектрофотометрії.

*Приготування розчину випробування*. До 1,250 г супозиторіїв додають 25,0 мл води очищеної та поміщають на водяну баню при температурі (37±5)° С до розплавлення основи. Витримують на водяній бані на протязі 5 хвилин при перемішуванні. Охолоджують на льодовій бані. Видаляють застиглий твердий жир та фільтрують водний шар крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 5 мл фільтрату. До 1,0 мл отриманого розчину додають 25 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду і доводять об’єм розчину водою очищеною до 250,0 мл. До 10,0 мл отриманого розчину додають 2,5 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду та доводять об’єм розчину водою очищеною до 25,0 мл.

*Приготування розчину порівняння*. 0,040 г СЗ парацетамолу розчиняють у воді очищеної і доводять тим самим розчиником до 25,0 мл. До 1,0 мл отриманого розчину додають 10 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду і доводять об’єм розчину водою очищеною до 100,0 мл. До 1,0 мл отриманого розчину додають 2,5 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду та доводять об’єм розчину водою очищеною до 25,0 мл.

*Компенсаційний розчин*. 0,01 М розчину натрію гідроксиду.

Вимірюють оптичну густину випробувального розчину та розчину порівняння відносно компенсаційного розчину на спектрофотометрі при λ=257 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розраховують вміст парацетамолу в супозиторіях (m), в мг/г, за формулою згідно ДФУ 2.2.25. Вміст парацетамолу (С8Н9NО2) в одному супозиторії має бути від 76,0 до 84,0 мг в перерахунку на середню масу одного супозиторію.

Методика визначення 4-амінофенолу у супозиторіях 80 мг/доза методом високоефективної рідинної хроматографії.

*Приготування розчину випробування.* До 4,70 г супозиторіїв додають 20 мл е*танолу Р* і 30млводи очищеної*,* нагрівають на водяній бані при температурі (37±5)° С при перемішуванні до розплавлення основи. Витримують на водяній бані при температурі (37±5)° С на протязі 10 хвилин при перемішуванні скляною паличкою. Охолоджують на льодовій бані. Видаляють застиглий твердий жир та фільтрують водний шар крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 3мл фільтрату. 5,0мл отриманого розчину доводять рухомою фазою в мірній колбі на 20мл до мітки.

*Приготування розчину порівняння*. 5 мг 4-амінофенолу розчиняють в метанолі та доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 50,0мл. 1,0мл отриманого розчину доводять рухомою фазоюв мірній колбі на 20мл до мітки.

*Хроматографічні умови*: Хроматографічна колонка Nucleosil C18 розміром 250×4,6mm, заповнена октадецилсилільним сорбентом з розміром часток 10 мкм; Рухома фаза – 0,01М розчин натрію 1-бутансульфонату у суміші мурашина кислота- метанол-вода очищена Р (0,4:15:85, об/об/об); Швидкість потоку рухомої фази – 1,5мл/хв.; Температура термостату колонки – 25°С; Довжина хвилі детектування – 272нм; Об’єм інжекції – 20 мкл.

Для оцінювання вмісту домішки, площу піку, одержаного на хроматограмі випробовуваного розчину, порівнюють із площею піку, що одержана на хроматограмі розчину порівняння. Вміст 4-амінофенолу для супозиторіїв має бути не більше 0,1 %.

**Результати досліджень.**

На підставі проведених фармако-технологічних досліджень було підтверджено вибір жирової основи - твердий жир Suppocire AP виробництва фірми «Gattefosse», Франція.

Проведено дослідження валідаційних характеристик методики кількісного визначення парацетамолу та його основної домішки4-амінофенолав ректальних супозиторіях.

Визначені специфічність, лінійність, правильність, максимально допустима невизначеність результату аналізу ΔAs, невизначеність пробопідготовки ΔSP, діапазон застосування, правильність методик кількісного вмісту парацетамолу та домішки 4-амінофенола.

Підтверджена лінійність для кількісного визначення вмісту парацетамолу в діапазоні від 80 до 120 % від номінального значення. Доведено, що лінійність, точність і правильність визначення парацетамолу в зазначеному діапазоні прийнятна, методика кількісного визначення систематичною похибкою не обтяжена.

Проведено статистичну обробку експериментальних даних, коефіцієнт кореляції лінійної залежності (r) між введеними і знайденими значеннями для кількісного вмісту парацетамолу, становить >0,990, що свідчить про коректність методики.

Встановлено межу виявлення 4-амінофенола, при якому виконується співвідношення сигнал/шум - 10% від вихідної концентрації розчину порівняння (0,5 мкг/мл).

 Всі контрольовані валідаційні характеристики відповідають критеріям прийнятності і можуть бути використані для контролю супозиторіїв з парацетамолом для застосування у педіатрії.

Проведено огляд та визначено основне технологічне обладнання для виробництва супозиторіїв, яке гарантує високі показники якості готового продукту. Автоматизація лінії виробництва лікарського супозиторіїв, знижує ризик контамінації, зменшує частку ручної праці, час технологічного процесу.

Наведена технологічна схема та опис технологічного процесу виробництва супозиторіїв з парацетамолом дозволяє контролювати якісні та кількісні показники до, під час та після процесу виробництва, дає змогу валідувати процес виробництва на всіх стадіях.

Запропоновано специфікації вхідного контролю якості парацетамолу та допоміжної речовини – твердого жиру, які використовуються на виробництві супозиторіїв, їх допустимі норми та методи контролю.

**Опубліковані тези**

**“**Дослідження фармако-технологічних показників для вибору складу супозиторіїв аналгетичної і жарознижуючої дії” в збірнику матеріалів ХІV науково-практичної конференції "Управління якістю в фармації" (22.05.2020р.)

Стаття на тему “Дослідження валідаційних характеристик методики кількісного визначення парацетамолу та його основної домішки в ректальних супозиторіях” авторів: Салій О.О., Кузьміної Г.І.,Фуклева Л.А., Манацюк В.В. подана до наукового журналу “Вісник Київського національного універститету технологій та дизайну”, яка буде опублікована у №3 (146)2020 року.

**Ключові слова:** *Парацетамол, 4-амінофенол, ректальні супозиторії, валідаційні характеристики, кількісне визначення, домішки.*