

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 615.1

РАЗРАБОТКА СОСТАВА, ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ТВЕРДОЙ ДОЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НОВОГО АТИПИЧНОГО НЕЙРОЛЕПТИКА ДИЛЕПТА

Л.Н. Грушевская¹, М.В. Гусев¹, Е.В. Блынская¹, Н.В. Тихонова¹, А.И. Марахова¹,
Л.М. Гаевая¹, Н.И. Авдюнина¹, К.В. Алексеев¹, Б.М. Пятин¹, С.Э. Кондаков²

(¹ФГБУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН; ²кафедра химической кинетики химического факультета МГУ; e-mail: eaureus@mail.ru)

Разработаны оптимальный состав, технологии изготовления и методики анализа для твердой дозированной лекарственной формы (таблеток) атипичного нейролептика «Дилепт». Показано, что оптимальным методом изготовления таблеток является прямое прессование при составе прессуемой массы субстанция–лудипресс 1:9. Идентификацию, определение содержания посторонних примесей, однородности дозирования и количественное определение субстанции в таблетках предложено проводить методом ВЭЖХ. Для количественной оценки степени высвобождения субстанции из таблеток при проведении теста «Растворение» рекомендован метод УФ-спектрофотометрии. Методом ускоренного старения показано, что качество таблеток в течение срока, эквивалентного двум годам хранения в естественных условиях, сохраняется.

Ключевые слова: дилепт, таблетки, состав, технология, методы анализа, ВЭЖХ.

Дилепт, метиловый эфир N-капроил-L-пролил-L-тирозина (рис. 1) – оригинальный дипептидный атипичный нейролептик, разработанный в ФГБУ НИИ Фармакологии им. В.В. Закусова РАМН [1]. В основе химической структуры нового лекарственного средства лежит аминокислотная последовательность Pro–Tyr, фрагмент нейротензина – эндогенного тридекапептида, играющего важную роль в патогенезе шизофрении [2]. Являясь фрагментом эндогенного тридекапептида, дилепт занимает уникальную позицию среди лекарственных средств, применяемых для

лечения шизофрении: он обладает антипсихотической активностью и вместе с тем проявляет положительный мнотропный эффект, что позволяет прогнозировать эффективность препарата в отношении негативной симптоматики шизофрении, а также при купировании психотических расстройств при болезни Альцгеймера [2]. Актуальность внедрения в медицинскую практику нового атипичного нейролептика доказана доклиническими исследованиями. Однако для клинического применения нового лекарственного средства необходимо создание его лекарственной

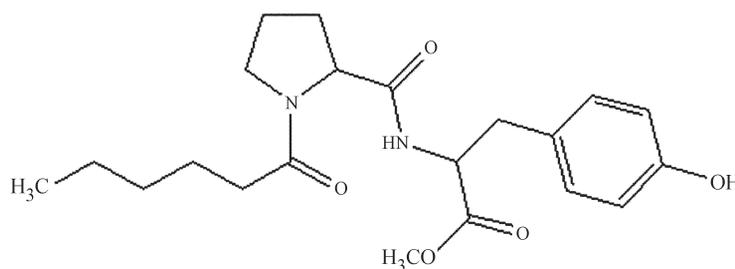


Рис. 1. Структурная формула дилепта

формы, обеспечивающей высокую биодоступность и, вместе с тем, высокую стабильность фармакологически активного вещества.

По результатам фармакологических исследований была установлена оптимальная лекарственная форма для нового нейролептика – таблетки, а также желаемая дозировка – 20 мг в таблетке.

Настоящее исследование посвящено фармацевтической разработке лекарственной формы (таблеток) нового оригинального лекарственного средства – дилепта. Цель работы – выбор научно обоснованного состава и технологии изготовления, а также методик анализа и экспериментально установленных норм, позволяющих поддерживать качество выпускаемого препарата на современном уровне эффективности и безопасности.

Материалы и методы исследования

Определение технологических характеристик субстанции, вспомогательных веществ и таблеточной массы проводилось согласно действующей нормативной документации – ГФ XI.

Сыпучесть определяли по массовой скорости истечения и углу естественного откоса. Прибор для определения сыпучести состоял из металлической воронки с отрезанным стеблем, укрепленной на вибраторе. Определение насыпной плотности порошка субстанции и вспомогательных веществ проводили методом свободного насыпания порошка, а также методом свободного его насыпания с условным уплотнением. Для этого использовали мерный цилиндр и электронные весы (точность взвешивания с ошибкой 0,01 г). Плотность определяли пикнометрически. Истираемость таблеток определялась на фриабилиторе. Исследования по разработке методик анализа были проведены на серийных образцах таблеток дилепта дозировкой 20 мг.

В качестве «свидетелей» при разработке методик анализа были использованы образцы субстанции дилепта, промежуточные продукты синтеза – N-капроил-L-пролин (I) и метиловый эфир L-тирозина (II), а также продукт гидролиза дилепта – N-капроил-L-пролин-L-тирозин (III).

УФ-спектры были получены на спектрофотометре UV-1700 («Shimadzu», Япония).

Изучение хроматографической подвижности методом ВЭЖХ было проведено на жидкостном хроматографе «LC-10AT» («Shimadzu», Япония) с фиксированным объемом петли 20 мкл, снабженном УФ-детектором «UV-VIS SPD-10A» с переменной длиной

волны, на колонке Ultra 5 мкм C₁₈ (250×4,6 мм) с предколонкой Ultra 5 мкм C₁₈ (30×4,6 мм), температура колонки комнатная.

Результаты и их обсуждение

Для разработки технологии изготовления таблеток дилепта был выбран метод прямого прессования, поскольку этот метод дает возможность получить таблеточную массу с хорошей сыпучестью, прессуемостью и высокой насыпной массой, а также позволяет уменьшить количество операций и ускорить технологический процесс. Анализ технологических характеристик субстанции дилепта (табл. 1) показал, что получение таблеток возможно при условии подбора адекватных вспомогательных веществ, придающих таблеточной массе необходимые для прямого прессования свойства: сыпучесть, прессуемость, соответствующий размер частиц, насыпную плотность и др. [3].

В качестве вспомогательных веществ были испытаны микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) фирмы «JRS», (Германия), лактоза моногидрат 80 меш фирмы «Amstelchema D. V.» (Нидерланды), Таблетоза 80, Микроцелака 100 и Cellactose 80 фирмы «Meggle» (Германия), Лудипресс фирмы «BASF» (Германия) и стеарат магния, физико-химические и технологические характеристики которых приведены в табл. 2. Установлено, что наилучшим набором характеристик в качестве вспомогательного компонента для прямого прессования обладает лудипресс.

Дальнейшее изучение технологических характеристик составов дилепт–лудипресс с разным содержанием компонентов показало, что для прямого прессования как с уплотнением, так и без уплотнения оптимальным (по критериям сыпучесть и насыпная плотность) является соотношение дилепта и лудипресса, равное 1:9. Данные, полученные для разных соотношений, приведены в табл. 3. На основании результатов проведенных исследований был предложен следующий состав таблеток: дилепт (0,020 г), лудипресс (0,178 г) и магния стеарат (0,002 г). По внешнему виду все образцы лекарственной формы представляли собой таблетки белого или почти белого цвета плоскоцилиндрической формы. Средняя масса таблеток находилась в пределах интервала от 0,2009 до 0,2016 г, отклонения от средней массы не превышали 7,5% и фактически составляли ±4%, время распадаемости составляло от 1 до 5 мин.

Определение содержания посторонних примесей и однородности дозирования, а также количественное

Т а б л и ц а 1

Технологические характеристики субстанции дилепта

Характеристики	Числовые показатели
Сыпучесть (г/с)	0
Насыпная плотность (г/см ³)	0,38±0,001
Плотность (г/см ³)	0,23±0,02
Угол естественного откоса (град)	38±0,32
Прессуемость (Н)	3,98±0,15
Гранулометрический состав частиц (%):	
> 2 мм	25,6±0,27
1–2 мм	52,48±0,14
0,5–1,0 мм	11,40±0,14
0,2–0,5 мм	5,42±0,06
0,125–0,2	3,80±0,08
< 0,125	2,75±0,12

Т а б л и ц а 2

Физико-химические и технологические характеристики вспомогательных веществ для прямого прессования

Наименование вспомогательного вещества	Форма частиц	Размер частиц, мкм (микроскопия)	Сыпучесть, г/с	Прессуемость, Н
Лактоза 80 меш	Призматическая	10–200	7,0–8,0	4,0+/-1,0
МКЦ Vivapur 102	Волокна и агломераты	10–200	2,0–3,0	30,0+/-0,5
Таблеттоза80	Агломераты призматической формы	10–100	9,0–10,0	3,0+/-1,0
Лудипресс	Агломераты шарообразной формы	50–400	10,0–12,0	8,0+/-0,5
Микроцеллак 100	Агломераты шарообразной формы	10–100	5,5–7,0	10,5+/-1,0
Cellactose 80	Агломераты шарообразной формы	10–100	5,5–6,0	8,0+/-1,0

определение и идентификацию дилепта в таблетках проводили с помощью метода ВЭЖХ в условиях, подобранных ранее для субстанции дилепта [4]. Анализ проводили в подвижной фазе ацетонитрил–вода–ледяная уксусная кислота (500:500:1), режим элюирования изократический при скорости элюэнта 0,5 мл/мин.

В образцах таблеток дилепта, так же как и в образцах субстанции, могут присутствовать промежуточные продукты синтеза дилепта (N-капроил-L-пролин

(КП) и метиловый эфир L-тирозина (МЭТ)), а также продукт гидролиза (N-капроил-L-пролин-L-тирозин (КПТ)).

Дилепт и примеси экстрагировали из точной навески растертых таблеток подвижной фазой при энергичном встряхивании в течение 10 мин, полученный раствор фильтровали через фильтр «Миллипор» с диаметром пор 0,45 мкм и далее разводили подвижной фазой до концентрации 0,1 мг/мл. Содержание посторонних примесей оценивали с помощью мето-

Т а б л и ц а 3

Технологические характеристики составов с различным соотношением дилепта и лудипресса

Соотношение дилепт–лудипресс	Сыпучесть, г/с	Насыпная плотность без уплотнения, г/см ³	Насыпная плотность с уплотнением, г/см ³
1:0	0	0	0
1:1	5,95±0,02	0,41±0,002	0,51±0,02
1:2	7,18±0,01	0,423±0,002	0,522±0,003
1:3	8,1±0,003	0,445±0,001	0,539±0,001
1:4	8,9±0,03	0,458±0,003	0,55±0,001
1:5	9,74±0,02	0,47±0,003	0,56±0,003
1:6	9,93±0,02	0,482±0,002	0,571±0,004
1:7	10,3±0,001	0,49±0,001	0,585±0,001
1:8	10,43±0,002	0,51±0,001	0,59±0,003
1:9	10,56±0,002	0,526±0,001	0,595±0,001

да внешнего стандарта, для чего был приготовлен раствор рабочего стандартного образца (PCO) субстанции дилепта в подвижной фазе с концентрацией 0,001 мг/мл.

Определение посторонних примесей в субстанции дилепта проводится при длине волны детектора 205 нм [4], однако при хроматографическом анализе таблеток дилепта было показано, что при этой длине волны на хроматограмме обнаруживаются компоненты вспомогательных веществ, которые могут мешать определению примесей в таблетках.

На рис. 2 представлены хроматограммы таблеток дилепта, модельной смеси субстанции дилепта и свидетелей технологических примесей (концентрация дилепта 0,1 мг/мл, концентрация каждой примеси 0,001 мг/мл) при 205 нм. Видно, что длина волны, используемая при анализе субстанции на посторонние примеси, из-за перекрывания пиков возможных примесей и компонентов вспомогательных веществ, входящих в состав таблеточной массы, не может быть использована для анализа чистоты лекарственной формы. С увеличением длины волны детектирования поглощение компонентов вспомогательных веществ снижалось и при длине волны 230 нм компоненты таблеточной массы уже не мешали определению примесей (рис. 3). На рис. 3 видно, что при этом происходит полное разделение пиков вспомогательных веществ, пиков дилепта и примесей и, кроме того, сохраняется достаточная чувствительность методики, позволяющая обнаружить вероятные примеси (промежуточные продукты синтеза и продукт гидролиза) в содержании в пробе около 0,5% от содержания дилепта.

Таким образом, определение посторонних примесей в таблетках дилепта было предложено проводить при длине волны 230 нм, концентрация дилепта в испытуемом растворе 0,1 мг/мл, концентрация раствора PCO 0,001 мг/мл. Пики со временем удерживания менее 5 мин принадлежали вспомогательным веществам и при обработке хроматограмм не учитывались.

Для проверки пригодности хроматографической системы готовили раствор МЭТ и дилепта с концентрацией каждого соединения по 0,01 мг/мл. В результате проведенных исследований были установлены следующие критерии пригодности: эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику дилепта, должна составлять не менее 3500 теоретических тарелок, фактор асимметрии пика дилепта не должен превышать 1,0, степень разделения между пиком дилепта и пиком МЭТ должна составлять не менее 6,0, а относительное стандартное отклонение результатов отдельных измерений площади пика дилепта не должно превышать 2%.

По описанной выше методике было определено содержание посторонних примесей в таблетках дилепта. В испытуемых образцах были обнаружены две неидентифицированные примеси с относительным временем удерживания 1,32±0,01 и 1,58±0,01. Примесей КП, МЭТ и КПТ обнаружено не было. Содержание индивидуальной примеси не превышало 0,5%, а содержание суммы примесей не превышало 2%.

Количественное определение дилепта в таблетках проводили методом ВЭЖХ в тех же условиях, что и определение посторонних примесей, за исключением аналитической длины волны, которая в данном слу-

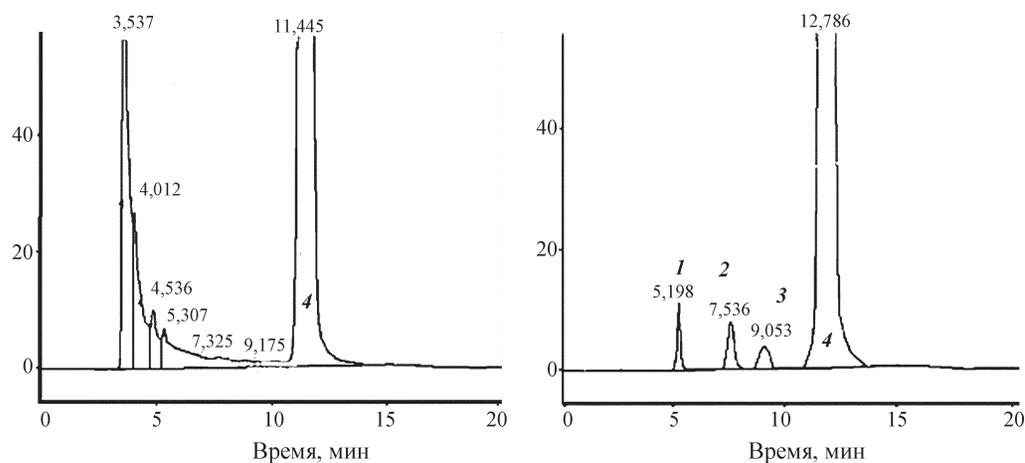


Рис. 2. Хроматограммы таблеток дилепта (а) и модельной смеси дилепта и примесей (б) при 205 нм (1 – метиловый эфир тирозина, 2 – N-капролин-L-пролил-L-тирозин, 3 – N-капролил-L-пролин, 4 – дилепт)

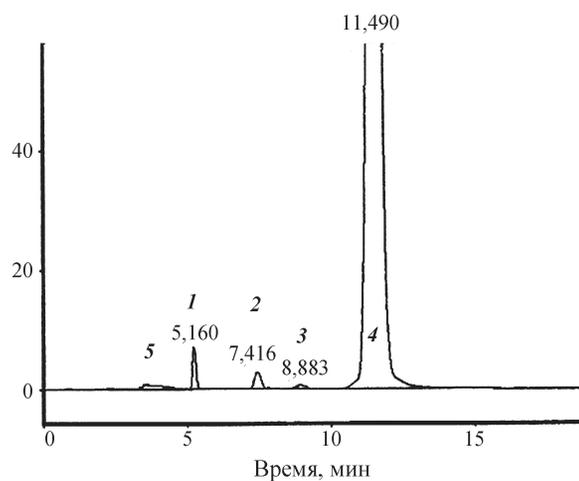


Рис. 3. Хроматограмма модельной смеси таблеток дилепта (0,1 мг/мл) и примесей (концентрация каждой примеси 0,0005 мг/мл) при 230 нм (1 – метиловый эфир тирозина, 2 – N-капролин-L-пролил-L-тирозин, 3 – N-капролил-L-пролин, 4 – дилепт, 5 – извлечение из вспомогательных веществ)

чае составляла 278 нм и соответствовала максимуму поглощения электромагнитного излучения растворами дилепта в подвижной фазе. Подготовку проб и проверку пригодности хроматографической системы проводили так же, как и при определении посторонних примесей.

Концентрация испытуемого образца и раствора РСО дилепта составляла 0,1 мг/мл (линейная зависимость площади пика от концентрации дилепта в рас-

творе была подтверждена на модельных растворах в диапазоне концентраций от 0,07 до 0,14 мг/мл, коэффициент корреляции составлял 0,999). В результате количественного анализа образцов таблеток было показано, что содержание дилепта в таблетках составляло от 18,9 до 20,5 мг/табл.

Идентификацию дилепта в таблетках проводили по соответствию времени удерживания основных пиков испытуемого раствора и раствора РСО дилеп-

та, одновременно с количественным определением. Определение однородности дозирования таблеток дилепта проводили в условиях количественного определения. Одну таблетку помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 70 мл подвижной фазы и встряхивали в течение 10 мин. Доводили объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали через фильтр «Миллипор» с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещали 5 мл фильтрата, доводили объем раствора до метки подвижной фазой, перемешивали. Концентрация испытуемого раствора и раствора РСО дилепта составляла 0,1 мг/мл.

Отклонения по показателю «Однородность дозирования» во всех образцах таблеток дилепта не превышали 15% и фактически составляли не более $\pm 7\%$.

Разработка теста «Растворение» для таблеток дилепта представляла определенную проблему в связи с тем, что субстанция дилепта практически нерастворима в воде и растворах хлористоводородной кислоты. В этом случае, согласно ОФС 42 0003-04, возможно использование водных растворов с добавлением ферментов, поверхностно-активных веществ (например, натрия додецилсульфата, твина-80 и др.) или органических растворителей.

Нами была изучена растворимость субстанции дилепта в водных растворах натрия додецилсульфата, твина-80, смесях воды и изопропилового спирта в разных соотношениях. В смеси изопропиловый спирт–вода (2:8) растворимость дилепта составляла около 1:17000, а при нагревании до 30–35°C растворимость дилепта в этой смеси растворителей увеличивалась до 1:1800, что являлось достаточным для получения раствора дилепта с концентрацией, приемлемой для количественной оценки. Поэтому смесь изопропиловый спирт–вода (2:8) была выбрана в качестве среды растворения.

Количественную оценку высвобождения дилепта из таблеток проводили с помощью метода УФ-спектрофотометрии при длине волны 276 нм, соответствующей максимуму поглощения электромагнитного излучения растворами дилепта в среде изопропиловый спирт–вода (2:8). При этой длине волны раствор плацебо не поглощал электромагнитного излучения и не мешал количественному определению дилепта. На модельных смесях дилепта и плацебо было показано, что при концентрациях субстанции в растворе от 0,01 до 0,5 мг/мл наблюдалась линей-

ная зависимость оптической плотности дилепта от его концентрации (коэффициент корреляции, вычисленный методом наименьших квадратов, составлял 0,999). Извлечение дилепта из модельных смесей с плацебо происходило достаточно полно, относительная ошибка определения не превышала 2%.

В результате проведенных исследований была разработана следующая методика: в сосуд прибора типа «лопастная мешалка» приливают 500 мл смеси, состоящей из 8 объемов воды и 2 объемов изопропилового спирта и термостатируют при 37°C. После этого помещают в каждый из шести сосудов по одной таблетке и включают мешалку (скорость вращения 50 об./мин). Через 45 мин отбирают пробу объемом 25 мл. Пробу фильтруют через фильтр «Millipore» с диаметром пор 0,22 мкм (концентрация дилепта в растворе 0,04 мг/мл).

Раствор РСО дилепта готовят следующим образом: около 10 мг (точная навеска) РСО дилепта помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и прибавляют 60 мл среды растворения, растворяют при нагревании на водяной бане до 30–35 °С, доводят объем раствора до метки и перемешивают. Затем 10 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки тем же растворителем (концентрация дилепта в растворе 0,04 мг/мл).

Измеряют оптическую плотность полученного раствора и раствора РСО на спектрофотометре при длине волны 276 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, раствор сравнения – смесь изопропилового спирта и воды (8:2).

В указанных условиях наблюдаемое высвобождение дилепта из таблеток находилось в пределах интервала 84,8–93,7% за 45 мин.

Стабильность таблеток при хранении была изучена методом «ускоренного старения» при 60°C [5]. При хранении в течение срока, эквивалентного двум годам хранения в естественных условиях, качество таблеток не изменялось.

Таким образом, нами был определен оптимальный состав дилепта, разработаны технология изготовления его твердой дозированной лекарственной формы, а также методики аналитического контроля его качества, оценена стабильность при хранении. В результате проведенных исследований была оформлена нормативная документация, регламентирующая процесс производства и контроля качества таблеток нового атипичного нейролептика пептидной структуры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Середенин С.Б., Воронина Т.А., Гудашева Т.А. и др. Патент РФ № 2091390 (1997).
2. Островская Р.У., Ретюнская М.В., Гузевых Л.С. и др. // Эксперим. и клин. фармакол. № 1(68), 3–6 (2005).
3. Сизяков С.А., Алексеев К.В., Сульдин А.С., Алексеева С.К. // Фармация, 2008. № 4.
4. Гусев М.В., Грушевская Л.Н., Авдюнина Н.И. и др. // Вопр. биол. мед. и фарм. хим, 2009. № 2.С. 38.
5. Временная инструкция по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода «ускоренного старения» при повышенной температуре И42-8-82, Минздрав СССР, Москва (1982).

Поступила в редакцию 20.02.13

METHODS OF IDENTIFICATION OF THE FORMULATION PARAMETERS FOR DILEPT TABLETS, INNOVATIVE NEUROLEPTIC DRUG

L.N. Grushevskaya, M.V. Gusev, E.V. Blinskaya, N.V. Tikhonova, A.I. Marachova,
L.M. Gaevaya, N.I. Avdyunina, K.V. Alekseev, B.M. Pyatin, S.E. Kondakov

(Department of the Russian Academy of Medical Sciences of Zakusov scientific research institute of pharmacology of the Russian Academy of Medical Science. Russia, Moscow; Department of Chemistry Lomonosov Moscow State University)

The technological characteristics of the Dilept substance were studied, the appropriate excipients and formulation parameters for Dilept tablets were selected. Identification, determination of related substances, uniformity of dosage units and assay tests were performed by HPLC. The quantitative analysis of Dilept in tablets for dissolution test was conducted by UV-spectrophotometry. Dilept tablets were shown to be stable during storage, a shelf-life of two years has been declared.

Key words: dilept, tablets, formulation parameters, analytical methods, HPLC.

Сведения об авторах: Грушевская Любовь Николаевна – ст. науч. сотр. опытно-технологического отдела ФГБУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН, канд. фарм. наук; Гусев Максим Владимирович – науч. сотр. опытно-технологического отдела ФГБУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН, канд. фарм. наук; Блынская Евгения Викторовна – мл. науч. сотр. лаборатории готовых лекарственных форм ФГБУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН (eaugus@mail.ru); Тихонова Наталья Викторовна – аспирант опытно-технологического отдела ФГБУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН; Марахова Анна Игоревна – ст. науч. сотр. опытно-технологического отдела НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН, канд. фарм. наук; Гаевая Людмила Михайловна – ст. науч. сотр. опытно-технологического отдела ФГБУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН, докт. фарм. наук; Авдюнина Нина Ивановна – вед. науч. сотр., руководитель группы технологии синтеза лекарственных средств опытно-технологического отдела ФГБУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН, канд. хим. наук; Алексеев Константин Викторович – зав. лабораторией готовых лекарственных форм опытно-технологического отдела ФГБУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН, докт. фарм. наук; Пятин Борис Михайлович – руководитель опытно-технологического отдела ФГБУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАМН, докт. фарм. наук; Кондаков Сергей Эмилевич – вед. науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ, докт. фарм. наук (kse@excite.chem.msu.ru).