

### **ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ ФІЗИКИ ПОВЕРХНІ У ФАРМАЦЕВТИЧНІЙ РОЗРОБЦІ ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ЕСЕНЦІАЛЬНИХ ФОСФОЛІПІДІВ**

**Ключові слова:** фізика поверхні, методи, фармацевтична розробка, лікарський препарат, есенціальні фосфоліпіди

Значне поширення захворювань печінки, а також наявність гепатотоксичної дії у багатьох синтетичних лікарських препаратів роблять актуальним пошук нових або удосконалення існуючих препаратів, які мають гепатопротекторну фармакологічну дію [1, 2].

Есенціальні фосфоліпіди – це незамінні спеціалізовані ліпіди природного походження, що є основними елементами в оболонках клітин. Вони приймають участь в регуляції ліпідного і вуглеводного обміну, поліпшують функціональний стан печінки та її дезінтоксикаційну функцію, сприяють збереженню і відновленню структури гепатоцитів, гальмують формування сполучної тканини в печінці [3].

Препарат Лесфаль (есенціальні фосфоліпіди), розчин для ін'єкцій в ампулах по 5,0 мл, розробляли як генерик оригінального препарату Есенціале Н, розчину для внутрішньовенного введення по 5 мл [4, 5].

Завданням фармацевтичної розробки (ФР) є отримання фармацевтично еквівалентного препарату. Фармацевтично еквівалентний препарат має ефективність і безпеку, порівняні з брендом. Одним із етапів ФР є трансфер лабораторної технології у промислове виробництво з мінімізацією можливих ризиків, проведення валідації процесу [6].

Основні питання, які вирішують у процесі ФР: вибір субстанції, допоміжних речовин і матеріалів, використовуваних на стадіях технологічного процесу; розроблення технологічних методів контролю виробничого процесу; розроблення і валідація аналітичних методів контролю; визначення критичних точок технологічних стадій процесу; розроблення лабораторної технології одержання готової лікарської форми [7, 8].

**Метою** цієї роботи було застосування методів фізики поверхні у ФР препарату на основі есенціальних фосфоліпідів.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Одними з фізико-хімічних методів, успішно вживаних в контролі технологічних стадій виробництва, проміжної і готової продукції є методи фізики поверхні: динамічне світлорозсіювання (розмір частинок і зета-потенціал), калориметрія, лазерна дифракція, мас-спектроскопія, рентгенівська електронна спектроскопія, мікроскопія, осмоляльність [9, 10].

Суть фізико-хімічних методів, створених на основі праць Д. І. Менделєєва, Я. Г. Вант-Гоффа та інших, полягає у вивченні співвідношень між складом та властивостями хімічних рівноважних систем [10].

Результати подібних досліджень подають у діаграмах «склад–властивість». Дослідження цих діаграм дає можливість виявити утворення нових стійких і нестійких сполук між досліджуваними компонентами, вивчити вплив окремих компонентів на властивості всієї системи.

У більшості випадків залежність властивості від складу є дуже складною. Часто одна й та сама властивість відповідає різним значенням складу (властивість виявляється багатозначною функцією складу), що утруднює його використання для аналітичних цілей. Тому для прямих фізико-хімічних методів, коли склад визначається як функція властивості, використовують лише ті ділянки повної діаграми «склад–властивість», на яких склад однозначно визначає властивість.

Широке розповсюдження фізико-хімічних методів аналізу, в першу чергу, пов'язане з тим, що ці методи мають значно більшу чутливість порівняно з хімічними методами. Якщо звичайними хімічними методами можна визначити концентрацію речовини порядку  $10^{-5}$  моль/л, то для деяких фізико-хімічних методів визначуваний мінімум є меншим на п'ять порядків. Враховуючи, що в практиці аналітичної хімії все більше місце займає визначення слідів речовин, перевага фізико-хімічних методів стає актуальною.

Перевагою цих методів є їхня селективність. Спектральний, палеографічний, мас-спектрометричний та інші методи дають змогу одночасно якісно і кількісно визначати десятки компонентів, що значно прискорює виконання аналізів, а це є особливо важливим у виробничих умовах [10].

Сучасний інтерес до застосування фізико-хімічних методів аналізу багато в чому зумовлений можливістю у виробничих умовах здійснювати автоматичний контроль технологічних процесів та їх автоматичне регулювання. Автоматичний контроль виробництва забезпечує безперервне спостереження за виробничим процесом і автоматичний запис результатів спостережень.

Фізичні властивості, що визначають якість готового продукту: розмір і форма частинок, в'язкість, величина рН і зета-потенціалу, термодинамічні властивості. Застосування методів фізики поверхні дає змогу за одне вимірювання визначити декілька величин і оцінити критичні параметри виробничого процесу.

В роботі було використано пілотну систему реактора mini Pilot general (Швейцарія) об'ємом 5 л з системою для виміру термодинамічних властивостей розчину (калориметрія), Zetasizer Nano ZSP (Великобританія) для виміру розміру частинок і зета-потенціалу, осмометр Knauer (Німеччина) для непрямого визначення вмісту етанолу в препараті, ротаційний випарник Buchi R250 (Швейцарія).

### **Результати дослідження та обговорення**

Для препарату Лесфаль критичними параметрами контролю є: вміст етанолу в препараті, вміст домішок (лізофосфатиділхоліну) та рН.

Визначення зета-потенціалу і розміру частинок використовували для встановлення параметрів фільтрації препарату Лесфаль (домінуюча модель фільтрації, тип фільтрації (постійний потік/тиск), вибір типу мембрани, параметри процесу); рН препарату, стабільності препарату, визначення ізоелектричної точки, результати яких було опубліковано раніше [11].

Критичним моментом в технології виробництва препарату є повнота видалення етанолу з емульсії ліпосом за допомогою упарювання. Технологічні параметри упарювання ін'єкційного препарату (тиск в колбі випарника, температура, швидкість обертання ротора) визначали експериментально, ґрунтуючись на кількості етанолу в розчині.

Класичним методом визначення кількості етанолу в розчині є метод газової хроматографії (ГХ). Цей метод має високу точність і чутливість, але має й істотний недолік – тривалість аналізу становить близько 3 год, що абсолютно не підходить для експрес-визначення вмісту етанолу у разі опрацювання технологічних параметрів.

Нами запропоновано застосовувати метод осмоляльності для експрес-аналізу вмісту етанолу в препараті. Використання осмоляльності дає змогу оцінити вміст етанолу за мінімальний час (близько 5 хв), що дає можливість в режимі реального часу підбирати технологічні параметри упарювання, опираючись на об'єктивні дані.

Під час додавання до ліпосомальної плівки розчину допоміжних речовин можливе збільшення кількості домішок лізофосфатиділхоліну. Для встановлення причин такого збільшення кількості домішок нами було здійснено моделювання цього процесу з використанням пілотної системи mini Pilot general з одночасним виміром кількості теплоти, яка виділяється або поглинається під час хімічних реакцій.

Методом калориметрії встановлено, що процес одержання препарату Лесфаль відбувається з виділенням теплоти в кількості 96–110 кДж, в результаті чого може збільшуватися кількість домішок до 8,0 мг/мл (рис. 1).

Можливою причиною збільшення кількості домішок є термоіндукована хімічна реакція утворення лізофосфатиділхоліну. Кількість теплоти, яка виділяється під час утворення натрієвої солі дезоксихолієвої кислоти, виявляється достатньою для активації ендотермічної реакції утворення лізофосфатиділхоліну. Відповідно, нами були підібрані такі умови додавання допоміжних речовин, за яких кількість теплоти, що виділяється, є недостатньою для активації процесу утворення лізофосфатиділхоліну (рис. 1).

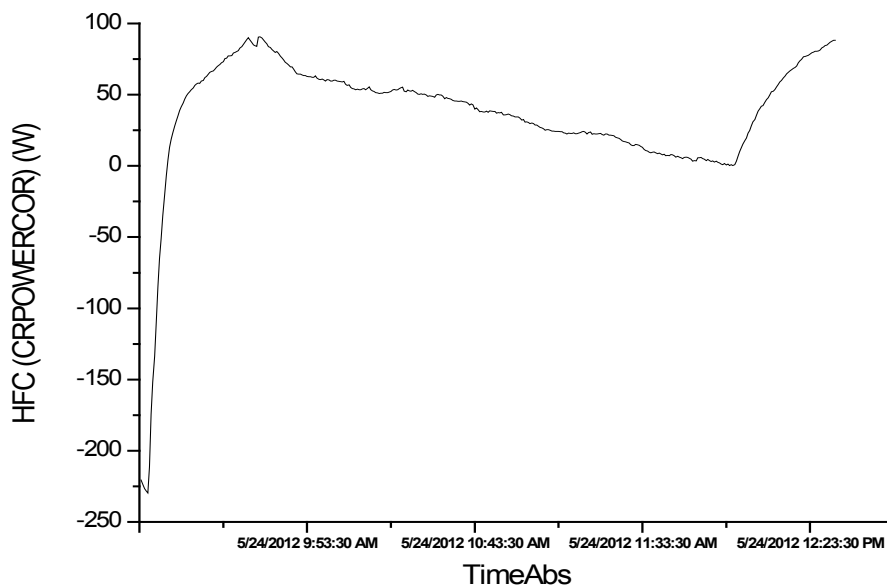


Рис. 1. **Графік виділення/поглинання теплоти під час утворення натрієвої солі дезоксихолієвої кислоти**

Наступним критичним параметром препарату на основі ліпосом є розмір ліпосом. Їх діаметр не має перевищувати 200 нм для забезпечення ефективної стерильної фільтрації продукту і відповідати такому в оригінальному препараті. Розмір ліпосом було виміряно за допомогою методу динамічного розсіювання світла на приладі Zetasizer nano ZSP (рис. 2).

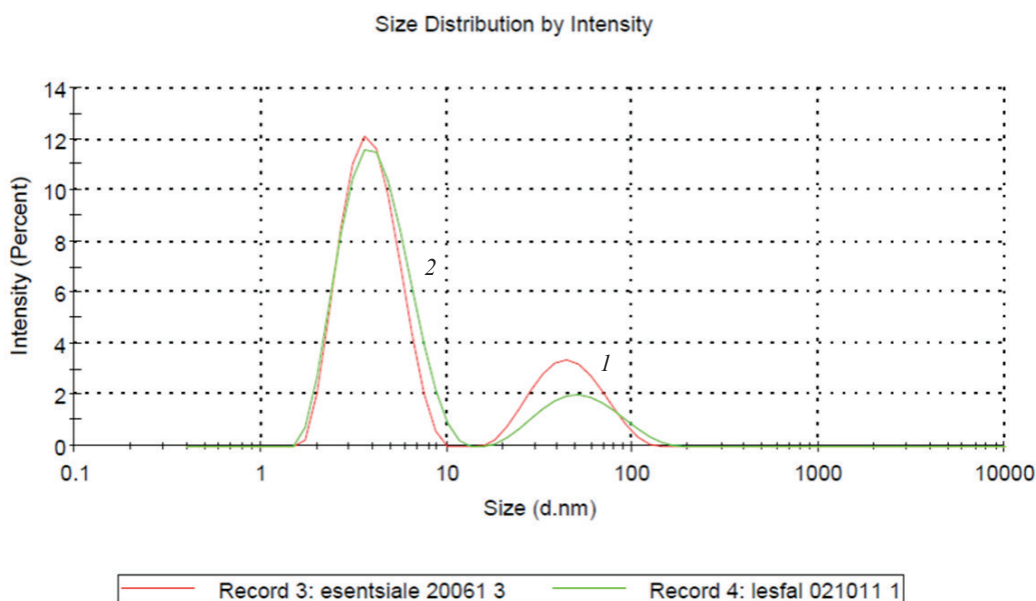


Рис. 2. Розмір частинок препаратів Ессенціале Н (1) і Лесфаль (2)

Діаметр ліпосом препарату Лесфаль становить в середньому 50 нм, що повністю задовольняє вимогам до стерильної фільтрації і збігається із значенням діаметра ліпосом у складі Ессенціале Н. Наявність піка з максимумом близько 4 нм свідчить про невеликі фрагменти фосфатидіхоліну, які утворюються в процесі утворення ліпосом.

Таким чином, нами під час розроблення промислової технології ліпосомального ін'єкційного препарату Лесфаль були проаналізовані всі стадії технологічного процесу з метою встановлення параметрів, які підлягають контролю у разі здійснення промислового виробництва і для виконання валідації технологічного процесу. Критичні параметри технологічного процесу виробництва препарату Лесфаль наведено в табл. 1.

Т а б л и ц я 1

**Критичні параметри технологічного процесу препарату Лесфаль**

№ з/п	Стадія технологічного процесу	Критичний параметр
1	Приготування суспензії ліпосом	
1.1	Приготування спиртового розчину	Час і інтенсивність перемішування – достатні для повного розчинення субстанції і дезоксихолієвої кислоти
1.2	Одержання ліпідної плівки	Час і інтенсивність перемішування, вакуум, температура – достатні для одержання ліпідної плівки. Виконання процесу в потоці азоту для попередження окиснення плівки киснем повітря
1.3	Одержання суспензії ліпосом великих розмірів	Час і інтенсивність перемішування, температура – достатні для повного розчинення гідроксиду натрію, хлориду натрію, рибофлавіну і ліпідної плівки. Утворення азотної подушки для попередження окиснення субстанції киснем повітря
2	Одержання готової лікарської форми	Час і інтенсивність диспергування, інтенсивність перемішування, цілісність фільтра, асептичні умови процесу розливу в ампули – достатні для одержання готової лікарської форми з заданими показниками якості

Найкращим доказом ефективності і безпечності розробленої технології одержання препарату є випуск на ринок продукту, який задовольняє вимогам методів контролю якості. У табл. 2 подано результати аналізу препарату Лесфаль серії 040310.

Т а б л и ц я 2

**Основні фізико-хімічні показники якості ліпосомального препарату Лесфаль**

Назва показника	Вимоги специфікації
Опис	Прозорий розчин зеленувато-жовтого кольору
Механічні включення: видимі частинки невидимі частинки	Має відповідати вимогам: частинки $\geq 10$ мкм – не більше 6 000/ампула частинки $\geq 25$ мкм – не більше 600/ампула
pH	Від 7,5 до 9,5
Вміст етанолу	Не більше 5,02 мг/мл
Кількісне визначення Фосфатиділхолін Лізофосфатиділхолін	Від 45,0 до 57,76 мг/мл Не більше 6,62 мг/мл

Методи фізики поверхні (динамічне світлорозсіювання, калориметрія, осмоляльність) дають змогу керувати технологією одержання препарату Лесфаль, обґрунтовувати основні технологічні параметри одержання продукту на всіх стадіях технологічного процесу.

**В и с н о в к и**

1. Критичними параметрами процесу одержання препарату Лесфаль є вміст домішок і етанолу.

2. Запропоновано для експрес-аналізу етанолу в препараті Лесфаль застосування методу осмоляльності, для контролю домішок лізофосфатиділхоліну – метод калориметрії.

**Л І Т Е Р А Т У Р А**

1. Губергриц Н. Б. «Эссенциале форте Н» и «Эссенциале Н» в гепатологии и гастроэнтерологии // Сучасна гастроентерологія. – 2008. – Т. 43, № 5. – С. 79–89.
2. Успенский Ю. П. Эссенциальные фосфолипиды: старые природные субстанции – новые технологии производства лекарственных препаратов // РЖГТК. – 2009. – № 5. – С. 24–28.
3. Сидорова И. Рынок лекарственных препаратов и БАД на основе эссенциальных фосфолипидов // Ремедиум. – 2014. – № 4. – С. 32–33.
4. Борщевский Г. И., Ярных Т. Г. Технологические аспекты создания инъекционного препарата на основе эссенциальных фосфолипидов / Мат. 9 междунар. науч.-практ. конф. «Новината за напреднали наука», 2013 г. – София. – С. 28–30.
5. Пат. на винахід № 97742. Ін'єкційний препарат на основі фосфатиділхоліну та спосіб його одержання / Жебровська Ф. І., Борщевський Г. І., Борщевська М. І., Костюк Г. В. – Заявл. 10. 11. 2010; Опубл. 12. 03. 2012, Бюл. № 5.
6. Георгиевский В. П. и др. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств. – Харьков: «НТМТ», 2011. – Т. 3. – 520 с.
7. Леонтьев Н. Е. Основы теории фильтрации. – М.: Изд-во ЦПИ при мех.-мат. факультете МГУ, 2009. – 88 с.
8. Борщевський Г. І., Комаров І. В., Кулінич А. В. Фактори, які впливають на стабільність препарату Лесфаль // Управління, економіка та забезпечення якості в фармацевції. – 2013. – № 6 (32). – С. 10–14.
9. Борщевський Г. І., Ярних Т. Г. Фізико-хімічне обґрунтування способу отримання багатокomпонентного ліпосомального препарату // Вісн. фармацевції – 2013. – № 3 (75). – С. 5–7.
10. Лебідь В. І. Фізична хімія. – Харків: Фоліо, 2005. – 478 с.
11. Борщевський Г. І. Застосування методу диференційної сканувальної калориметрії для визначення якості фільтрації на прикладі препарату Лесфаль // Фармац. журн. – 2013. – № 4. – С. 72–80.

Надійшла до редакції 25. 06. 2014.

Г. И. Борщевский<sup>1</sup>, Т. Г. Ярных<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ПАТ «Фармак», г. Киев

<sup>2</sup> Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ФИЗИКИ ПОВЕРХНОСТИ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ

**Ключевые слова:** физика поверхности, методы, фармацевтическая разработка, лекарственный препарат, эссенциальные фосфолипиды

### АННОТАЦИЯ

К основным вопросам, решаемым в процессе фармацевтической разработки лекарственных препаратов, относятся выбор субстанции, вспомогательных веществ; разработка технологических и аналитических методов контроля; определение критических точек и т. д. Цель работы – применение методов физики поверхности в фармацевтической разработке препарата на основе эссенциальных фосфолипидов.

В результате проведенных исследований обосновано применение методов физики поверхности в фармацевтической разработке препарата на основе эссенциальных фосфолипидов (динамическое светорассеивание, калориметрия, осмоляльность), которые дают возможность управлять технологией получения лекарственного препарата, обосновывать основные технологические параметры получения продукта на всех стадиях технологического процесса.

Показано, что критическими параметрами процесса получения препарата Лесфаль являются содержание примесей и этилового спирта. Предложено для экспресс-анализа этилового спирта в препарате использование метода осмоляльности, для контроля примесей лизофосфатидилхолина – метода калориметрии.

G. I. Borshevskiy<sup>1</sup>, T. G. Yarnykh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PJP «Farmak», Kyiv

<sup>2</sup> National University of Pharmacy, Kharkiv

## APPLICATION OF SURFACE IN PHYSICS METHODS IN PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT OF THE MEDICINE ON THE BASIS OF ESSENTIAL PHOSPHOLIPIDS

**Key words:** pharmaceutical and medical law, control mode, medicines, alcohol addiction

### ABSTRACT

The main issues addressed in the process of pharmaceutical medicine's development include the choice of substance, excipients; development of technological and analytical methods of control; definition of critical points, etc. Objective – the application of surface in physics methods in pharmaceutical development of the medicine on the basis of essential phospholipids.

The application of surface in physics methods in pharmaceutical development of the medicine on the basis of essential phospholipids (dynamic light scattering, calorimetry, osmolality), which allow to control the technology of obtaining a medicine and to justify basic technological parameters of receipt of the product at all stages of the process, is grounded.

It is shown that the critical parameters of the process of obtaining the medicine Lesfal are contents of impurities and ethyl alcohol. It is proposed for the rapid analysis of ethanol to use in the medicine a method of osmolality and to control impurities of lysophosphatidylcholine – calorimetry method.

*Електронна адреса для листування з авторами: gbors64@mail.ru*