

1 – Московский технологический университет (МИТХТ), 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, 78

2 – ЗАО «Институт фармацевтических технологий», 121353, Россия, г. Москва, Сколковское шоссе, 21/32, стр. 1

1 – Moscow Technological University (MITHT), 78, Vernadsky Prospect, Moscow, 119571, Russia

2 – CJSC Institute of Pharmaceutical Technologies, 21/32, Skolkovskoe shosse, Moscow, 121353, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: sk-vika@yandex.ru

СТАНДАРТИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСА ВКЛЮЧЕНИЯ ДИСУЛЬФИРАМА С ГИДРОКСИПРОПИЛ- β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ ДЛЯ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ

С.А. Кедик^{1,2}, А.В. Панов^{1,2}, В.С. Тюкова^{1,2*}

Резюме. В Государственной фармакопее XIII изд. изложены основные принципы обеспечения качества фармацевтических субстанций, перечислены показатели, которые должны включаться в нормативную документацию, дана характеристика этих показателей и рекомендации по их регламентации. Вводимые показатели контроля качества и пределы нормирования должны соответствовать назначению фармацевтической субстанции. В данной работе изложены основные показатели, которые могут быть использованы для стандартизации комплекса включения дисульфирама с гидроксипропил- β -циклодекстрином для дальнейшего его использования в качестве фармацевтической субстанции.

Ключевые слова: стандартизация, контроль качества, фармацевтические субстанции, комплекс включения, дисульфирам, гидроксипропил- β -циклодекстрин.

STANDARDIZATION OF INCLUSION COMPLEX OF DISULFIRAM WITH HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRIN FOR USE AS PHARMACEUTICAL SUBSTANCES

S.A. Kedik^{1,2}, A.V. Panov^{1,2}, V.S. Tyukova^{1,2*}

Abstract. The State Pharmacopoeia XIII sets out the main principles of quality of pharmaceutical substances listed parameters that should be included in the regulatory documents, given the characteristics of these indicators and recommendations for their regulation. Input quality control performance and valuation limits must comply with the appointment of the pharmaceutical substance. This paper presents the key indicators that can be used to standardize the inclusion complex of disulfiram with hydroxypropyl- β -cyclodextrin for later use as a pharmaceutical substance.

Keywords: standardization, quality control, pharmaceutical substances, inclusion complex, disulfiram, hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

ВВЕДЕНИЕ

Дисульфирам (ДСФ), использующийся в настоящее время для лечения алкогольной и наркотической зависимости [1], также является перспективным лекарственным средством для профилактики и терапии катаракты, поскольку подавляет действие гидроксильных радикалов, супероксидов, пероксинитритов и хелатов ионов металлов [2], которые приводят к разрушению белков хрусталика и в конечном итоге к его помутнению. ДСФ может активировать антиоксидантную защиту и замедлять развитие катаракты [3], что подтверждено лабораторными исследованиями [4–6]. Однако его использование в офтальмологии, в частности для приготовления глазных капель, ограничено из-за низкой растворимости в воде (4,09 мг/л, при 25 °С [1]), поэтому для приготовления глазных лекарственных форм с ДСФ целесообразно использовать солюбилизаторы. Зачастую в фармацевтической практике в качестве солюбилизаторов ис-

пользуют циклодекстрины [7, 8]. Хорошо зарекомендовал себя гидроксипропил- β -циклодекстрин (ГП β ЦД) благодаря улучшенному профилю безопасности и высокой растворимости в воде по сравнению с другими циклодекстринами [9].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ранее [10] были описаны различные методы получения комплекса включения ДСФ с ГП β ЦД. В данной работе проведена стандартизация полученного комплекса включения ДСФ с ГП β ЦД для его дальнейшего использования в качестве фармацевтической субстанции.

Обязательными показателями, регламентирующими качество фармацевтической субстанции, являются описание, растворимость, подлинность, родственные примеси, потеря в массе при высушивании, сульфатная зола, тяжелые металлы, микробиологическая чистота и количественное определение [11].

Стандартизации подвергалось шесть лабораторных серий комплекса включения ДСФ с ГПВЦД.

Фармацевтическая субстанция на основе комплекса включения ДСФ с ГПВЦД представляет собой аморфный порошок от белого с желтоватым оттенком до светло-желтого цвета.

Фармацевтическая субстанция на основе комплекса включения ДСФ с ГПВЦД легко растворима в воде, растворима в 96% спирте этиловом, практически нерастворима в ацетоне и гексане.

Для подтверждения подлинности образования комплекса включения предлагается использовать метод ^1H -ЯМР-спектроскопии (ОФС.1.2.1.1.0007.15).

Установление подлинности методом ЯМР-спектроскопии осуществляют путем сравнения спектра испытуемого образца со спектром стандартного образца или с опубликованным эталонным спектром. Спектры стандартных и испытуемых образцов должны быть получены с использованием одних и тех же методик и условий. Пики в сравниваемых спектрах должны совпадать по положению, интегральной интенсивности и мультиплетности, значения которых следует приводить при описании спектров (отклонения значений химического сдвига испытуемого и стандартных образцов в пределах $\pm 0,1$ м.д. для ^1H -ЯМР и $\pm 0,5$ м.д. для ^{13}C -ЯМР).

На ^1H -ЯМР-спектре раствора испытуемого образца должны наблюдаться характерные сигналы положения, интегральные интенсивности, мультиплетности и химические сдвиги сигналов которых должны соответствовать таковым на ^1H -ЯМР типичного спектра комплекса включения (рисунок 1).

Подтвердить подлинность образования комплекса включения можно методом УФ-спектрофотометрии (ОФС.1.2.1.1.0003.15) по наличию максимума поглощения при длине волны 216 ± 2 нм на УФ-спектре поглощения раствора комплекса включения.

Испытание на наличие родственных примесей контролирует продукты деструкции фармацевтической субстанции и технологические примеси, обусловленные технологией производства. Примеси могут быть идентифицированные (соединения с установленным химическим строением) и неидентифицированные (соединения, строение которых не установлено). Пределы содержания родственных примесей в фармацевтических субстанциях приводят с учетом параметров их безопасности. Пределы контроля, идентификации и квалификации родственных примесей для фармацевтических субстанций (в зависимости от максимальной суточной дозы лекарственного препарата) приведены в таблице 1.

Приведенные пределы учитываются при нормировании родственных примесей в фармацевтических субстанциях.

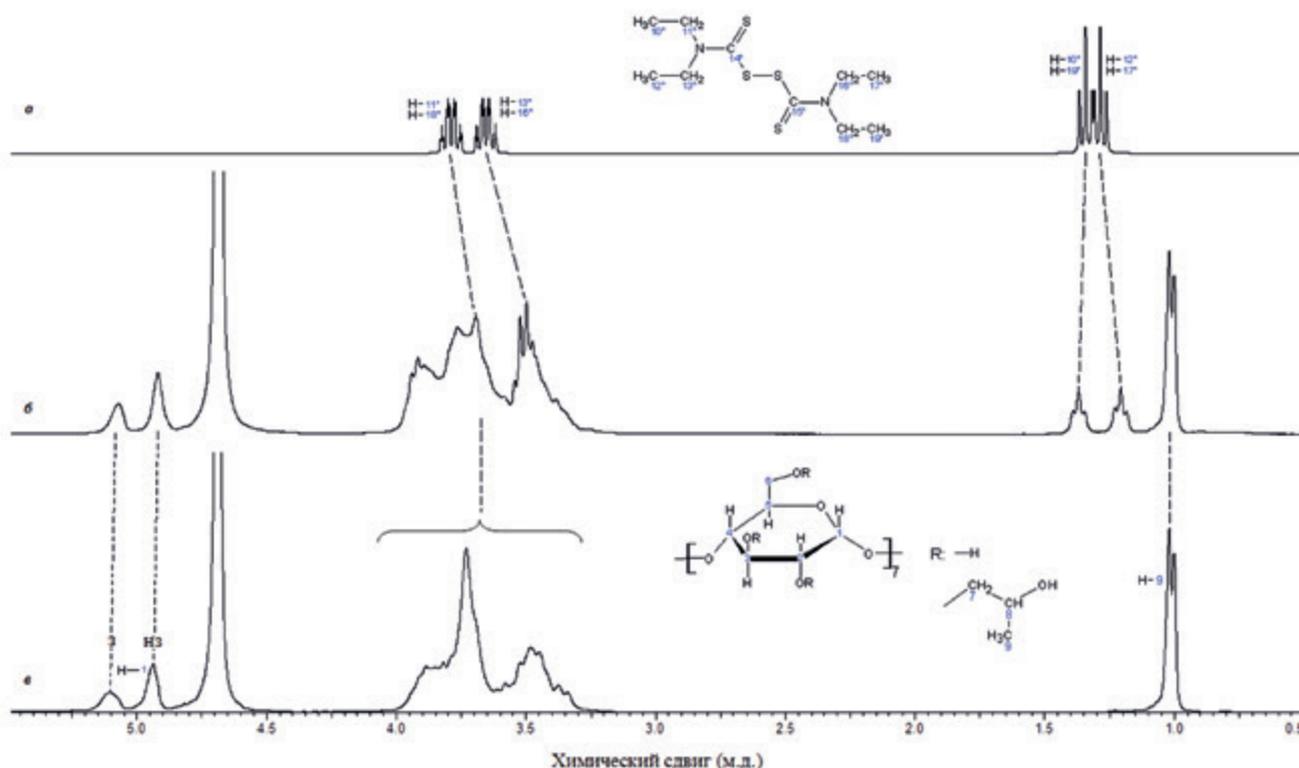


Рисунок 1. Спектры ^1H -ЯМР растворов: (а) ДСФ в CDCl_3 (по данным спектральной базы данных SDBS [15]), (б) комплекса включения, (в) ГПВЦД в D_2O

Для контроля родственных соединений обычно используют хроматографические и, реже, спектроскопические методы. Обязательно вводится идентификация и количественное определение токсичных примесей с использованием стандартных образцов.

Таблица 1.

Пределы контроля, идентификации и квалификации родственных примесей в фармацевтических субстанциях

Максимальная суточная доза	Контролируемый предел	Предел идентификации**	Предел квалификации***
≤2 г/сут	0,05%	0,1% или 1,0 мг/сут (что меньше)	0,15% или 1,0 мг/сут (что меньше)
>2 г/сут	0,03%	0,05%	0,05%

Примечание: *предел, выше которого примесь должна контролироваться;
 **предел, выше которого примесь должна быть идентифицирована;
 ***предел, выше которого должна быть установлена биологическая безопасность.

Способ получения комплекса включения не предусматривает появления технологических примесей, кроме того, методом термогравиметрического анализа с последующей регистрацией ИК-спектров смеси выделяющихся газов было установлено, что термодеструкция комплекса включения начинается при тем-

пературе 190 °С. Таким образом, появления продуктов деструкции не наблюдается при хранении субстанции в естественных условиях. Исходя из этого, предлагается контролировать содержание родственных примесей, которые могут находиться в исходных компонентах ДСФ и ГПβЦД. Поскольку, исходя из загрузки, содержание ДСФ в комплексе включения в мольном соотношении в два раза меньше, а содержание его примесей, согласно нормативному документу, регламентируется как величина, не превышающая 0,5%, то родственными примесями ДСФ можно пренебречь. Содержание родственных примесей фармацевтической субстанции предлагается контролировать согласно стандартной методике, предложенной ЕР 8 для ГПβЦД (07/2013:1804).

Испытание потери в массе при высушивании вводят для контроля содержания летучих веществ в субстанции, причем регламентируют содержание летучих веществ, учитывая их количество, которое может находиться в исходных компонентах ДСФ и ГПβЦД (ОФС.1.2.1.0010.15).

Потеря в массе при высушивании для исходного компонента ГПβЦД, согласно входному контролю, составляет 2,52%, а нормируется ЕР 8 как величина, составляющая не более 10,0%. Поэтому нормирование показателя «потеря в массе при высушивании» фармацевтической субстанции на основе комплекса включения ДСФ с ГПβЦД должна соответствовать таковому для исходного компонента ГПβЦД, т.е. не более 10,0%.

Содержание сульфатной золы, как правило, не должно превышать 0,1%. Содержание сульфатной золы в фармацевтической субстанции контролируется

Таблица 2.

Спецификация к нормативному документу «Дисульфирам, комплекс включения, субстанция»

Показатель	Метод	Нормы
Описание	Визуальный	Аморфный порошок от белого до светло-желтого цвета
Подлинность	1. ¹ H-ЯМР-спектр 2. Реакция с антроном	1. ¹ H-ЯМР-спектр субстанции по положению сигналов должен соответствовать типичному ¹ H-ЯМР-спектру 2. Окрашивание раствора в синий цвет
Растворимость	ГФ XIII	Легко растворим в воде, растворим в спирте этиловом 96%, практически нерастворим в ацетоне и гексане
Посторонние примеси	ЕР 8: 1. ВЭЖХ 2. ГЖХ	β-ЦД – не более 1,35% Этиленгликоль – не более 2,25%
Потеря в массе при высушивании	ГФ XIII	Не более 10,0%
Остаточные органические растворители	ГЖХ	Этанол – не более 0,5%
Сульфатная зола	ГФ XIII	Не более 0,1%
Тяжелые металлы	ГФ XIII	Не более 0,001%
Микробиологическая чистота	ГФ XIII	Должен выдерживать требования категории 1.2.Б.
Количественное определение ДСФ	УФ-спектрофотометрия	Не менее 7,5% и не более 10,5%

стандартным методом, описанным в фармакопейной статье ОФС.1.2.2.2.0014.15.

Устанавливаемые пределы содержания тяжелых металлов в фармацевтических субстанциях определяются максимальной суточной дозой препарата, произведенного из данной субстанции, и длительностью его возможного применения. В большинстве случаев содержание тяжелых металлов не должно превышать 0,001% (ОФС.1.2.2.2.0012.15).

В фармацевтических субстанциях определяют остаточные количества органических растворителей 1 класса токсичности, если обосновано их применение, независимо от стадии, на которой они используются. Для растворителей 2 класса токсичности, используемых не на последней стадии производства фармацевтических субстанций, в нормативной документации должен быть предусмотрен контроль их остаточного содержания либо должно быть приведено обоснование отсутствия контроля их остаточного содержания; если растворители 2 класса токсичности используются на последней стадии, каждый из них должен быть определен количественно. В фармацевтических субстанциях контроль растворителей 3 класса токсичности необходим, если они используются на последней стадии производства.

Поскольку для получения комплекса включения ДСФ и ГПБЦД используется органический растворитель этанол, который относится к 3 классу токсичности, его остаточное количество должно контролироваться.

Для определения остаточного количества этанола предлагается использовать метод газовой хроматографии по стандартной методике.

Микробиологическая чистота фармацевтической субстанции должна соответствовать требованиям категории 1.2.Б согласно ОФС.1.2.4.0002.15.

Количественное определение ДСФ в фармацевтической субстанции предлагается определять методом УФ-спектрофотометрии, оно характеризует степень включения ДСФ во внутреннюю полость ГПБЦД.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Перечисленные показатели позволяют наиболее точно охарактеризовать в качестве фармацевтической субстанции полученный продукт, содержащий комплекс включения ДСФ с ГПБЦД.

На основании проведенных исследований разработан проект нормативной документации, спецификация представлена в таблице 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученный водорастворимый продукт, содержащий комплекс включения ДСФ с ГПБЦД, стандартизован в качестве фармацевтической субстанции и может

в дальнейшем применяться в фармацевтической промышленности при разработке новых лекарственных форм, в том числе для терапии катаракты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дисульфирам (Disulfiramum) // Интернет-справочник лекарств. URL: http://avitsena.com.ua/ru/spravochnik_lekarstv/d/disulfiram.html (дата обращения 15.05.2015).
2. L.P. Rybak, R. Ravi, S.M. Somani. Mechanism of protection by diethyldithiocarbamate against cisplatin ototoxicity: antioxidant system // *Fundamental and applied toxicology*. 1995. V. 26. P. 293–300.
3. A.L. Zanocco, R. Pavez, L.A. Videla, E.A. Lissi. Antioxidant capacity of diethylthiocarbamate in a metal-independent lipid peroxidase process // *Radical Biology & Medicine*. 1989. V. 7. P. 151–156.
4. N. Nagai, M. Takeda, Y. Ito, N. Takeuchi A. Kamei. Delay in ICR/f rat lens opacification by the instillation of eye drops containing disulfiram and hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex // *Biol. Pharm. Bull.* 2007. V. 30(8). P. 1529–1534.
5. N. Nagai, Y. Ito, N. Takeuchi. Effect of disulfiram eye drops on lipid peroxide formation via excessive nitric oxide in lenses of hereditary cataract ICR/f rats // *Biol. Pharm. Bull.* 2008. V. 31(5). P. 981–985.
6. N. Nagai, Y. Ito, N. Takeuchi. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of the anti-cataract effect of eye drops containing disulfiram and low-substituted methylcellulose using ICR/f rats as a hereditary cataract model // *Biol. Pharm. Bull.* 2012. V. 35. № 2. P. 239–245.
7. S. Göktürk, E. Caliskan, R.Y. Talman, U. Var. A study on solubilization of poorly soluble drugs by cyclodextrins and micelles: complexation and binding characteristics of sulfamethoxazole and trimethoprim // *The Scientific World Journal*. 2012. V. 2012. 12 p.
8. A. Chaudhary, U. Nagaich, N. Gulati, V.K. Sharma, R.L. Khosa. Poorly water soluble drugs: change in solubility for improved dissolution characteristics a review // *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*. 2012. V. 2. № 1. P. 32–67.
9. T. Loftsson, D. Duchene. Historical perspectives cyclodextrins and their pharmaceutical applications // *International Journal of Pharmaceutics*. 2007. V. 329. P. 1–11.
10. С.А. Кедик, В.С. Тюкова, Е.С. Жаворонок, А.В. Панов, В.В. Бондарь. Новый способ получения комплекса включения на основе дисульфирама с гидроксипропил- β -циклодекстрином // *Биофармацевтический журнал*. 2015. Т. 7. № 4. С. 19–23.