

РОЗРОБКА СПЕЦИФІКАЦІЇ ТА КОНТРОЛЬ ВХІДНИХ МАТЕРІАЛІВ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ АМОКСИЦИЛІНУ ТРИГІДРАТУ

*Р. М. Сачук¹, д-р вет. наук, с. д.,
Л.-М. Є. Костишин², асистент,
Б. В. Гутий², д-р вет. наук, професор,
Я. С. Стравський³, д-р вет. наук, с. н. с.,
Т. А. Велесик¹, канд. екон. наук, доцент,
О. А. Кацараба², канд. вет. наук, доцент,
У. І. Тесарівська⁴, д-р вет. наук,
С. В. Жигалюк⁵, біолог,
Л. В. Курилас⁴, старший науковий співробітник,
С. А. Пономарьова⁴, старший науковий співробітник*

¹Рівненський державний гуманітарний університет,
вул. Пластова, 31, м. Рівне, 33000, Україна
sachuk.08@ukr.net

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С. З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

³Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського,
майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46002, Україна

⁴Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок,
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

⁵Рівненська гімназія «Гармонія»,
проспект Генерала Безручка, 26, м. Рівне, 33004, Україна

Для характеристики та визначення якості ветеринарного лікарського засобу «Амоксидев 60» (порошок для перорального застосування) до складу якого входить амоксицилін тригідрат, крім фізико-хімічних випробувань, важливим залишається розробка специфікації та контроль вхідних матеріалів, призначених для його виробництва.

Метою дослідження було створити препарат на основі амоксициліну тригідрату відповідної якості і обґрунтувати специфікацію контроль вхідних матеріалів, призначених для його виробництва.

Ветеринарний препарат «Амоксидев 60» – водорозчинний порошок білого кольору із специфічним запахом. Один грам препарату містить діючої речовини: амоксициліну тригідрату – 600 мг і наповнювач: лактоза – до 1 г.

Лікарський засіб призначають зоопарковим тваринам – лані європейській, декоративній птиці (фазан, павич) для лікування та профілактики захворювань респіраторної (ринотрахеїти, бронхоневмонії, пневмонії), травної (гастроентерити, ентероколіти), сечостатевої систем (метрити, нефрити, уроцистити), опорно-рухового апарату та м'яких тканин (травми, міозити, дерматити, мастити), викликаних чутливими до дії препарату мікроорганізмами.

Контроль вхідної сировини включав наступні операції: визначення масової частки амоксициліну тригідрату; проведення випробовування; підготовка контрольного розчину; хроматографування; випробовування амоксициліну тригідрату на чистоту; випробовування амоксициліну тригідрату на наявність супровідних домішок; визначення рН дослідного розчину та прозорості розчину субстанції.

На основі запропонованої специфікації та підходів до лабораторного контролю забезпечення якості порошку для перорального застосування на основі амоксициліну тригідрату розроблено виробничу документацію, яка відповідає матеріалам реєстраційного досьє до ветеринарного препарату «Амоксидев 60». Результати випробувань належним чином досліджені та задокументовані відповідно до Стандарту операційної процедури (СОП).

Ключові слова: СУБСТАНЦІЯ, АМОКСИЦИЛІНУ ТРИГІДРАТ, КОНТРОЛЬ, РОБОЧИЙ РОЗЧИН, ВОДА.

DEVELOPMENT OF SPECIFICATION AND CONTROL OF INPUT MATERIALS FOR THE MANUFACTURE OF AMOXICILLINE-TRIHYDRATE BASED PREPARATION

R. M. Sachuk¹, L.-M. Y. Kostyshyn², B. V. Gutyj², Ya. S. Stravsky⁴, T. A. Velesik¹, O. A. Katsaraba², U. I. Tesarivska⁴, S. V. Zhyhalyuk⁵, L. V. Kurylas⁴, S. A. Ponomareva⁴

¹Rivne State University of the Humanities,
31, Plastova str., Rivne, 33000, Ukraine
sachuk.08@ukr.net

²Stepan Gzhytskyi Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies,
50, Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

³I. Gorbachevsky Ternopil National Medical University,
maidan Voli, 1, Ternopil, 46002, Ukraine

⁴State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

⁵Rivne Gymnasium «Harmony»,
26, General Bezruchko Avenue, Rivne, 33004, Ukraine

To characterize and determine the quality of the veterinary medicinal product «Amoxidev 60» (powder for oral use) which contains amoxicillin trihydrate, in addition to physical and chemical tests, it is important to develop a specification and control of input materials intended for its production.

The aim of the study was to create a drug based on amoxicillin trihydrate of appropriate quality and to substantiate the specification of control of input materials intended for its production.

Veterinary drug «Amoxidev» - water-soluble white powder with a specific odor. One gram of the drug contains the active substance: amoxicillin trihydrate – 600 mg and filler: lactose – up to 1 g.

The drug is prescribed to zoo animals - European deer, ornamental birds (pheasant, peacock) for the treatment and prevention of respiratory diseases (rhinotracheitis, bronchopneumonia, pneumonia), digestive (gastroenteritis, enterocolitis), genitourinary systems (metritis, nephritis, rubella) apparatus and soft tissues (injuries, myositis, dermatitis, mastitis) caused by microorganisms sensitive to the drug.

Control of raw materials included the following operations: determination of the mass fraction of amoxicillin trihydrate; testing; preparation of control solution; chromatography; testing of amoxicillin trihydrate for purity; testing of amoxicillin trihydrate for the presence of accompanying impurities; determination of the pH of the test solution and the transparency of the substance solution.

Based on the proposed specification and approaches to laboratory quality control of powder for oral use based on amoxicillin trihydrate developed production documentation that corresponds to the registration dossier for the veterinary drug «Amoxidev 60». The test results are properly investigated and documented in accordance with the Operating Standards Standard (SOP).

Keywords: SUBSTANCE, AMOXYCYLIN TRIHYDRATE, CONTROL, WORKING SOLUTION, WATER.

Для обґрунтування цільового профілю якості ветеринарного лікарського засобу, перш за все, потрібно мати визначений перелік критеріїв якості для розробленої препаративної форми. На основі цих критеріїв в подальшому можуть бути визначені потенційні критичні показники якості при виробництві лікарського засобу. Загальний перелік критеріїв якості включає нормовані фармако-технологічні та фізико-хімічні показники. Згідно з діючим виданням Державної Фармакопеї України (ДФУ), розроблений лікарський засіб повинен відповідати вимогам загальної статті «Порошок для перорального застосування». Нормовані показники якості для ветеринарного лікарського засобу, у вигляді порошку для перорального застосування, наведені у відповідних статтях ДФУ, а також у ТУ У 21.2-40781800-032:2022 (Derzhavna Farmakopeia Ukrainy, 2014; 2015; Sachuk et al., 2022). З урахуванням вимог діючого видання ДФУ, Наказу № 133 Державного комітету ветеринарної медицини України від 14.07.2008 р. та нормативних документів, визначено основні показники якості і критерії прийнятності, які включено до специфікації для проведення дослідження контролю якості порошку для перорального застосування на основі амоксициліну тригідрату, а саме: опис, ідентифікація, упаковка препарату, зберігання, термін придатності. Для характеристики та визначення якості препарату, крім фізико-хімічних випробувань, важливим залишається контроль вхідних матеріалів, призначених для його виробництва.

Наше дослідження стосується розробки підходів до лабораторного контролю на ТОВ «ДЕВІЕ» для забезпечення якості ветеринарного препарату «Амоксидев 60».

Мета дослідження – створити препарат на основі амоксициліну тригідрату відповідної якості і обґрунтувати контроль вхідних матеріалів, призначених для його виробництва.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження були зразки ветеринарного лікарського засобу «Амоксидев 60» (порошок для перорального застосування) (ТУ У 21.2-40781800-032:2022) до складу якого входить амоксициліну тригідрат, а також допоміжні речовини: лактоза.

Прилади, матеріали й реактиви:

- хроматограф рідинний «Shimadzu LC-6A»;
- інтегратор «Shimadzu RC-6A»;
- УФ детектор «Shimadzu SPD-6AV»;
- колонка 0,25м×4,6 мм; нерухома фаза – силікагель октадецилсилільний для хроматографії (зерніння – 5 мкм).;
- рН-метр згідно з ГОСТ 9245;
- центрифуга ОПН-8УХЛ42, згідно з чинними нормативними документами або аналогічна;
- ваги лабораторні, згідно з ГОСТ 24104;
- колби мірні, згідно з ГОСТ 1770 ємкістю 200, 1000 см³;
- стакан хімічний, згідно з ГОСТ 25336 ємкістю 1000 см³;
- піпетки, згідно з ГОСТ 1770 ємкістю 1, 2, 3 см³;
- пробірки, згідно з ГОСТ 1770;
- установка для вакуум-фільтрації;
- фільтри 0,45 мк, згідно з чинними нормативними документами;
- натрію гідроксид, ч.д.а. згідно з ГОСТ 4328-77;
- дигідрофосфат калію ч.д.а. згідно з ГОСТ 2493;

- вода бідистильована, згідно з ГОСТ 6709;
- ацетонітрил, х.ч. для хроматографії, згідно з чинними нормативними документами;
- стандарт – титри, згідно з ДСТУ ГОСТ 8.135;
- оцтовий ангідрид, згідно з ГОСТ 21039-75;
- піридин, згідно з ГОСТ 13647-78;
- фенолфталеїн, згідно ТУ 6-09-5360-88.

Сировина: амоксициліну тригідрат імпортного виробництва, за наявності сертифікату походження та за наявності сертифікату відповідності; спирт бензиловий, згідно з ГОСТ 8751-72; вода дистильована, згідно з ГОСТ 6709.

При розробці специфікації та документації щодо контролю вхідної сировини при виробництві порошку для перорального застосування на основі амоксициліну тригідрат проводили вивчення фармако-технологічних характеристик мас для виготовлених порошку, за загальноприйнятими методиками, що наведені в ДФУ у лабораторії з контролю якості, безпечності та реєстрації ветеринарних лікарських засобів і кормових добавок ТОВ «ДЕВІЕ» (Chuyeshov et al., 2012; Derzhavna Farmakopeia Ukrainy, 2014; 2015).

Результати й обговорення. *Опис.* Ветеринарний лікарський засіб «Амоксидев 60» – водорозчинний порошок білого кольору із специфічним запахом.

Склад (активні діючі та допоміжні речовини). Один грам препарату містить:

- діючої речовини: амоксициліну тригідрат – 600 мг;
- наповнювач: лактоза – до 1 г.

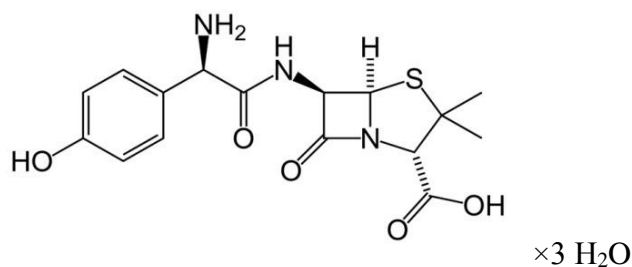
Діючою речовиною препарату є амоксициліну тригідрат ([2S-[2-альфа,5-альфа,6-бета(S*)]]-6-[[Аміно-(4-гідроксифеніл)ацетил] аміно]-3,3-диметил-7-оксо-4-тіа-1-азабіцикло [3.2.0] гептан-2-карбонової кислоти тригідрат).

CAS-номер – [26787-78-0].

АТС – vet класифікаційний код: QJ01CA04- антибактеріальна речовина для системного використання, що відноситься до групи бета-лактамних антибіотиків – напівсинтетичних пеніцилінів широкого спектру дії.

Синоніми та скорочення: Amoxicillin trihydrate, Amoxicillinum trihydricum, Amoxicilline, Amoxil, Amoxycillin.

$C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$, молекулярна маса – 419,4



Вміст діючої речовини у субстанції – від 95 % до 102 % (на безводну речовину).

Максимальний вміст допустимих домішок:

- вологість (вода) – 14,5 %;
- N, N-диметиланілін – 0,002 %;
- сульфатна зола – 1 %;
- важкі метали – 0,002 %;

Амоксициліну тригідрат – білий кристалічний порошок, помірно гігроскопічний. Малорозчинний у воді, майже нерозчинний в етанолі, нерозчинний у гідрофобних розчинниках та жирних оліях. Розчиняється у розведених кислотах та розведених розчинах гідроксидів лугів.

Кут обертання – від +290 до +315 (безводна субстанція).

Дози і способи введення тваринам різного віку. Призначають тваринам зоопарків – лані європейській, декоративній птиці (фазан, павич) для лікування та профілактики захворювань респіраторної (ринотрахеїти, бронхопневмонії, пневмонії), травної (гастроентерити, ентероколіти), сечостатевої систем (метрити, нефрити, уроцистити), опорно-рухового апарату та м'яких тканин (травми, міозити, дерматити, мастити), викликаних чутливими до дії препаратом мікроорганізмами.

«Амоксидев 60» вводять перорально з питною водою або з кормом (витримує грануляцію) у дозах для:

– лань європейська – 10-20 мг амоксициліну тригідрату на 1 кг живої ваги (1,7-3,5 г препарату на 100 кг маси тіла) з кормом або 120-250 г препарату на 1000 л питної води;

– декоративна птиця – 7,5-15 мг амоксициліну тригідрату на 1 кг маси тіла з кормом або 85-170 г препарату на 1000 л питної води.

Курс лікування – 3-5 днів.

Перед вводом препарату у систему водопостачання готується маточний розчин препарат/вода у співвідношенні 1 до 10.

Упаковка препарату. Препарат «Амоксидев 60» фасують у полімерні пакети по 500 та 1000 г. Допустиме відхилення в масі фасування $\pm 3\%$.

Зберігання. Темне, недоступне для дітей місце за температури від 8 °С до 15 °С. Не заморозувати!

Термін придатності – 24 місяці. Після розчинення у воді, розчин необхідно використати протягом 18 годин.

Після першого розкриття полімерного пакету препарат можна використовувати протягом 28 днів.

Для виготовлення препарату «Амоксидев 60» використовується така сировина (на 100 кг препарату): амоксициліну тригідрат – 60 кг і лактоза – до 100 кг.

Контроль здійснюється по отриманню субстанції та наповнювачів на карантинний склад. При цьому звертається увага на наявність сертифікату якості і відповідності серії маркованої на первинному та вторинному упакуванні та вказаному в сертифікатах. Оцінюється якість і цілісність упакування та опломбування, правильність та відповідність маркування. Аналізується однорідність субстанції, видима наявність домішок, відповідність запаху та кольору визначеним у ідентифікаційних документах.

За невідповідності хоча б одного із параметрів проводиться відбір зразків субстанції для лабораторного підтвердження відповідності сертифікату якості.

При зберіганні сировини, що поступає для потреб виробництва карантинному складі, обов'язково дотримуються умов зберігання рекомендовані виробником кожної субстанції.

Лабораторний контроль вхідної сировини складається з наступних операцій.

Визначення масової частки амоксициліну тригідрату. Проведення випробовування, зокрема підготовка проб для досліджень.

У мірну колбу, місткістю 50 см³ потрібно внести 200,0 мкл препарату, розчинити у невеликій кількості рухомої фази А і довести об'єм цією рухомою фазою до рівня мітки.

Підготовка контрольного розчину. В мірну колбу місткістю 50 см³ потрібно внести 30,0 мг стандарту амоксициліну тригідрату (результат зважування у грамах записати з точністю до четвертого десяткового знаку), розчинити у невеликому об'ємі рухомою фазою А і її приливати до рівня мітки.

Підготовка рухомої фази А. Приготування буферного розчину.

В мірну колбу, місткістю 1000 см³ внести 850 см³ 0,2М розчину калію дигідрофосфату, додати 0,1М розчин натрію гідроксиду до рН = 5 і приливати бідистильовану воду до рівня мітки.

Приготування рухомої фази А.

У мірну колбу, місткістю 1000 см³ внести 10 см³ ацетонітрилу і приливати буферний розчин до рівня мітки.

Хроматографування. Рекомендовані умови хроматографування.

Рухома фаза А: ацетонітрил-буферний розчин рН 5 (1:99).

Рухома фаза В: ацетонітрил-буферний розчин рН 5 (20:80).

Швидкість потоку рухомої фази – 1,0 мл/хв.

Детектування – спектрофотометрично за довжини хвилі 254 нм.

Обробка результатів.

Масову частку амоксициліну тригідрату, (X), у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{S_2 \cdot C_{СТЕ} \cdot d \cdot M}{S_1 \cdot V}, \quad (1)$$

де: S₁ – площа піку амоксициліну тригідрату для контрольного розчину, мм²;

S₂ – площа піку амоксициліну тригідрату для досліджуваного розчину, мм²;

M – маса наважки стандартного зразку амоксициліну тригідрату, г;

V – об'єм досліджуваної проби, см³;

C_{СТЕ} – вміст амоксициліну тригідрату в стандарті, %;

d – густина досліджуваного розчину препарату при 20 °С, г/см³.

Випробовування амоксициліну тригідрату на чистоту.

Визначення рН розчину субстанції. Приготування дослідного розчину S.

В мірну колбу місткістю 50 см³ вносять 0,1 г субстанції, додають 30 см³ води, вільної від діоксиду вуглецю, і обережно нагріваючи розчиняють. Після розчинення додають воду до рівня мітки.

Визначення рН дослідного розчину S. За допомогою іономера вимірюють рН розчину S, значення якого має бути від 3,5 до 5,5.

Визначення прозорості розчину субстанції. В мірну колбу місткістю 10 см³ потрібно внести 1,0 г субстанції, доводять 0,5М розчином соляної кислоти до рівня мітки. Отриманий розчин за ступенем каламутності не має перевищувати еталон І згідно ДФУ.

В мірну колбу, місткістю 10 см³ вносять 1,0 г субстанції, доводять розчином аміаку розведеного (за ДФУ) до рівня мітки. Отриманий розчин за ступенем каламутності не має перевищувати еталон ІІ, згідно з ДФУ.

Випробовування амоксициліну тригідрату на наявність домішок. Визначення проводять методом рідинної хроматографії згідно п. 1 («Кількісне визначення»), підбираючи співвідношення рухомих фаз А та В. У вибраних умовах в ізократичному режимі хроматографують розчин порівняння та свіжоприготовлений розчин досліджуваної субстанції. Відразу після виходу піку амоксициліну починають хроматографування в режимі лінійного градієнту так, щоб через 25 хв після початку градієнту співвідношення рухомих фаз А та В становило 0:100. Продовжують хроматографування впродовж 15 хв з використанням рухомої фази В. Потім впродовж 15 хв урівноважують колонку рухомою фазою початкового складу.

На хроматограмі дослідного розчину площа будь-якого піку, крім основного і піків, що відповідають пікам на хроматограмі стандартного розчину, не повинні перевищувати площу основного піку на хроматограмі розчину порівняння.

На основі запропонованої специфікації та підходів до лабораторного контролю забезпечення якості порошку для перорального застосування на основі амоксициліну тригідрату розроблено виробничу документацію, яка відповідає матеріалам частини ІІ «Хімічна, фармацевтична і біологічна документація» реєстраційного досьє до ветеринарного препарату «Амоксидев 60». Результати випробувань поза межами специфікацій; відхилення та гранична відповідність належним чином досліджені та задокументовані відповідно до СОП. Дана документація розроблена в лабораторії з контролю якості, безпечності та реєстрації ветеринарних лікарських засобів і кормових добавок ТОВ «ДЕВІЕ» та на кафедрі гігієни,

санітарії та загальної ветеринарної профілактики імені М.В. Демчука Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З. Гжицького. Виробнича документація апробована на фармацевтичному підприємстві ТОВ «ДЕВІЕ» (м. Рівне).

В И С Н О В К И

З урахуванням сучасних фармакопейних вимог, отриманих фармако-технологічних і фізико-хімічних характеристик розроблено та обґрунтовано специфікацію на ветеринарний лікарський засіб, до якої включено наступні показники якості: склад, ідентифікація, упаковка препарату, зберігання, термін придатності. Результати випробувань щодо контролю вхідної сировини включали наступні операції: визначення масової частки амоксициліну тригідрату; проведення випробовування; підготовка контрольного розчину; хроматографування; випробовування амоксициліну тригідрату на чистоту; випробовування амоксициліну тригідрату на наявність домішок; визначення рН дослідного розчину та прозорості розчину субстанції. Ця документація розроблена та задокументована відповідно до Стандарту операційної процедури (СОП) відповідає матеріалам частини II «Хімічна, фармацевтична і біологічна документація» реєстраційного досьє до ветеринарного препарату «Амоксидев 60».

Перспективи досліджень. У перспективі планується розробити виробничу документацію щодо контролю виготовленого ветеринарного препарату «Амоксидев 60» (порошок для перорального застосування), яка відповідатиме матеріалам частини II «Хімічна, фармацевтична і біологічна документація» реєстраційного досьє на вказаний лікарський засіб.

References

Chuieshov, V.I., Hladukh, Ye.V., & Saiko. I.V. (2012). Tekhnolohiia likiv promyslovoho vyrobnytstva: pidruchnyk dlia stud. vyshch. navch. zakl. [Technology of industrial drugs: a textbook for students. higher training. institutions]: v 2-kh ch., 2-e vyd., pererob. i dop. Kharkiv : NFaU: Zoloti storinky., 1. 694. [In Ukrainian].

Derzhavna Farmakopeia Ukrainy 2.0. (2014). Derzhavne pidpriemstvo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr» Kharkiv: RIREH. 1. 724. [In Ukrainian].

Derzhavna Farmakopeia Ukrainy 2.0. (2015). Derzhavne pidpriemstvo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr» Kharkiv: RIREH. 2. 1128. [In Ukrainian].

Sachuk, R.M., Tverdyi, Yu.M., Hutyi, B.V. et al. (2022). Tekhnichni umovy Ukrainy 21.2-40781800-032:2022 «Amoksydev 60». [Technical conditions of Ukraine 21.2-40781800-032: 2022 «Amoxidev 60»]. Lviv : DNDKI vetpreparativ i kormovykh dobavok., 20. [In Ukrainian].