

Рекомендована д. фармац. наук, проф. Т. А. Грошовим

УДК 615.28.014.24

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ І КОНЦЕНТРАЦІЇ ДОПОМІЖНИХ РЕЧОВИН ПРИ ФАРМАЦЕВТИЧНІЙ РОЗРОБЦІ РОЗЧИНУ МЕТРОНІДАЗОЛУ ДЛЯ ІНФУЗІЙ

© **Н. І. Гудзь, Т. Г. Калинюк, Я. В. Назарук**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Резюме: на етапі фармацевтичної розробки закладаються основи якості, ефективності та безпеки лікарських засобів (ЛЗ). З метою створення якісного ЛЗ, який буде відповідати фармакопейним вимогам та заявленим цілям, необхідно провести низку науково обґрунтованих теоретичних та експериментальних досліджень, які доведуть, що обрані компонентний склад, лікарська форма, виробничий процес і первинне упакування є відповідними та оптимальними. Ми провели експериментальні дослідження щодо вибору допоміжних речовин і їх концентрації на прикладі інфузійного розчину метронідазолу. Встановлено, що для приготування 1 л 0,5 % інфузійного розчину метронідазолу необхідно додати 8,0 г натрію хлориду, 0,1 г динатрію едетату, 0,263 г цитратної кислоти безводної та 0,5–0,6 г динатрію гідрофосфату безводного. Приготовлений розчин стабільний після стерилізації. Показники рН, кількісного вмісту метронідазолу і натрію хлориду близькі до значень до стерилізації.

Ключові слова: метронідазол, фармацевтична розробка, допоміжні речовини, рН-регульовальні речовини.

Вступ. Метронідазол – антибактеріальний та антипротозойний засіб групи похідних нітроімідазолу, який більше 45 років застосовують у світовій медичній практиці і є все ще ефективним у лікуванні трихомоніазу, амебіазу та анаеробних інфекцій органів дихання, сечових шляхів, шлунково-кишкового тракту, для профілактики анаеробної інфекції перед операціями на кишечнику [1–3]. Механізм дії препарату зумовлений порушенням структури ДНК-чутливих мікроорганізмів. Як свідчать літературні дані та власні дослідження стану реєстрації в Україні лікарських препаратів метронідазолу, ця діюча речовина входить до складу таких лікарських форм, як таблетки, капсули, розчини для інфузій, вагінальні супозиторії, гелі стоматологічні, вагінальні та інші [4, 5]. Більшість препаратів метронідазолу надходять в Україну з-за кордону. Таким чином, актуальними є дослідження з розробки складу та технології вітчизняного інфузійного розчину метронідазолу.

Як відомо, якість, ефективність та безпека ЛЗ залежать не тільки від діючої речовини, а й від допоміжних речовин. Метою введення допоміжних речовин у рецептуру є забезпечення хімічної та мікробіологічної стабільності протягом виробничого процесу та зберігання і надання певних функціональних характеристик досліджуваному ЛЗ: стабільність, ізотонічність, гіпертонічність, смак, запах, зовнішній вигляд, швидкість вивільнення діючої речовини, диференціація ЛЗ різної сили дії тощо [6–10].

Основними групами допоміжних речовин, які широко використовують у технології парентераль-

них ЛЗ, очних крапель, рідких оральних ЛЗ, є регулятори осмолярності, буфери і речовини, які регулюють рН, комплексоутворювачі. Вибір таких речовин та їх концентрації необхідно обґрунтувати з позицій хімічної стабільності діючої речовини, безпеки для здоров'я людини, а також з точки зору рН досліджуваного ЛЗ та вимог монографій фармакопей на ЛЗ. Необґрунтовано завищені концентрації будь-яких допоміжних речовин можуть викликати побічні ефекти [7, 10].

Мета роботи – розробити склад і технологію 0,5 % розчину метронідазолу для інфузій з використанням буферних розчинів.

Методи дослідження. Методи інформаційного пошуку, аналізу даних літератури; розрахунковий на основі рівняння Гендерсона-Гассельбаха, потенціометричний, спектрофотометричний, аргентометричний.

Результати й обговорення. При фармацевтичній розробці парентеральних ЛЗ, особливо для внутрішньосудинного та інтраперитонеального введення, необхідно проводити дослідження у напрямку наближення значень рН ЛЗ до фізіологічних (7,0–7,4), ЛЗ для зовнішнього застосування – до рН 5,5. Під час фармацевтичної розробки актуальними є питання вибору речовин, які регулюють значення рН ЛЗ та їх концентрації з точки зору стабільності та безпеки. Буфери і рН-регульовальні речовини додають до ЛЗ для корегування рН для покращення розчинності і стабільності діючих речовин і наближення значень рН ЛЗ до фізіологічних [7, 8, 10].

У клітинах організму рН підтримують фосфатні і білкові буферні системи. Фосфатна буферна

система складається зі спряженої кислотно-основної пари H_2PO_4^- і HPO_4^{2-} , яка має рН близько 7,0 ($\text{pK}_a=7,21$), тому фосфатна буферна система служить добрим буфером у межах рН 6,1–7,7 [9, 11].

Фосфати, цитрати і ацетати найчастіше використовують у фармацевтичній технології парентеральних і оральних ЛЗ як буферні речовини. Цитрати, крім регуляторів рН, виконують ще і функцію комплексоутворювачів [7, 9, 10]. Для парентеральних ЛЗ фосфатний буферний розчин найчастіше одержують на основі поєднання натрію дигідрофосфату і динатрію гідрофосфату у відповідних концентраціях, фосфатно-цитратний – на основі поєднання кислоти цитратної та динатрію гідрофосфату або натрію дигідрофосфату, цитратний буфер – на основі цитратної кислоти та натрію цитрату, ацетатний – на основі ацетатної кислоти та натрію ацетату.

В Україні зареєстровані ЛЗ метронідазолу у формі 0,5 % розчину для інфузій як вітчизняних, так і переважно закордонних виробників. Характерною особливістю цих лікарських засобів є різний якісний склад допоміжних речовин, включно речовини, які регулюють рН. Більшість із зареєстрованих розчинів метронідазолу містять речовини, які регулюють рН (натрію дигідрофосфат, динатрію гідрофосфат, кислота цитратна) і натрію хлорид як регулятор осмолярності. Деякі розчини містять динатрію едетат.

Для надання досліджуванім ЛЗ ізотонічності у рецептурі додають натрію хлорид, глюкозу, фруктозу, D-сорбітол та ін. Потреба у введенні регуляторів осмолярності (тонічності) пояснюється тим, що концентрація діючої речовини переважно не забезпечує ізотонічність розчину. Для ін'єкційних ЛЗ регулятори тонічності вводять для зменшення болю та подразнення, до інфузійних – для запобігання гемолізу. Для введення значної кількості рідини безпосередньо в кров'яне русло або спинномозковий канал вона обов'язково повинна бути ізотонічною. Інакше неминучі ураження кров'яних тілець або тяжкі uszkodження нервової тканини [7, 9]. 0,5 % метронідазолу створює осмолярність лише 29 мосмоль/л при осмолярності плазми 280–310 мосмоль/л. Тому для забезпечення ізоосмолярності інфузійного 0,5 % розчину метронідазолу необхідно додати 0,8 г натрію хлориду на 100 мл розчину.

Для зв'язування іонів важких металів і іонів кальцію і магнію, які вимиваються зі скла під час термічної стерилізації та наступного зберігання препарату, нами був обраний динатрію едетат у мінімальній концентрації 0,01 % з діапазону рекомендованих концентрацій 0,01–0,11 % [10].

За вимогами Американської фармакопеї інфузійний розчин метронідазолу повинен мати зна-

чення рН у діапазоні від 4,5 до 7,0, яке необхідно підтримувати за допомогою буферних систем.

Нами були проведені розрахунки вибору концентрації компонентів буферної системи на основі рівняння Гендерсона–Гассельбаха для 0,5 % розчину метронідазолу для інфузій, а також експериментальні дослідження. Враховуючи те, що від'ємний логарифм константи кислотності спряженої пари $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ становить 7,21, нами було розраховано, що для забезпечення рН розчину близько 5,75 співвідношення компонентів буферної системи $C_{\text{NaH}_2\text{PO}_4}/C_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$ повинно становити близько 30. Так, при використанні 0,0033 М розчину динатрію гідрофосфату необхідно взяти близько 0,1 моль натрію дигідрофосфату. Згідно з рівнянням Гендерсона–Гассельбаха при зміні співвідношення солей $C_{\text{NaH}_2\text{PO}_4}/C_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$ від 100:1 до 10:1 рН буферної системи повинно змінюватися в межах від 5,2 до 6,2. Проте відомо, що при співвідношенні компонентів буферної системи, яке перевищує 10:1, буферні властивості розчину є дуже слабкими [9, 11]. Тому наступні дослідження були спрямовані на пошук «буферної пари» з сильнішою кислотою, яку використовують як допоміжну речовину у виробництві парентеральних ЛЗ. До таких кислот належить цитратна кислота.

Проведено експериментальні дослідження з підбору концентрації компонентів фосфатно-цитратного (динатрію гідрофосфат-кислота цитратна) буферного розчину, оскільки рівняння Гендерсона–Гассельбаха передбачає використання слабкої кислоти і спряженої з нею основи або навпаки.

Відповідно до вимог Державної фармакопеї України (ДФУ) значення рН від 4,5 до 7,0 забезпечують буферні розчини різної іонної сили з використанням багатьох речовин: калію гідроталату, калію ацетату, динатрію гідрофосфату, калію дигідрофосфату тощо [12]. Однак ці буферні розчини не можна використовувати для стабілізації лікарських засобів, оскільки:

- призначенням цих буферних розчинів є їх використання у багатьох хімічних аналізах;
- вміщують речовини, які не використовують як допоміжні у виробництві парентеральних лікарських засобів або їх концентрація перевищує максимальні рекомендовані концентрації, які можуть використовуватися.

Для експериментальних досліджень ми обрали за основу фармакопейний фосфатно-цитратний буфер зі значенням рН 5,5, оскільки він містить речовини, які можна використовувати як допоміжні речовини у виробництві інфузійних розчинів. Кислота цитратна широко використовується у фармацевтичній та харчовій промисловості, передусім, як буферна речовина (0,1–2,0 %) для регуляції

pH, а також як антиоксидант, коригент смаку (0,3–2,0 %) та кислотний агент [9, 10].

Одним із завдань нашого дослідження було встановити кількість фосфатно-цитратного буферу зі значенням pH 5,5, який потрібно додавати до розчину метронідазолу для забезпечення pH близько 5,5.

Відповідно до вимог ДФУ для приготування фосфатно-цитратного буферного розчину з pH 5,5 змішують розчин динатрію гідрофосфату безводного Р у концентрації 28,4 г/л та розчин кислоти цитратної Р 21 г/л у співвідношенні 56,85:43,15 [12]. Концентрація цитратної кислоти у приготуваному буфері становить 43,15 ммоль/л.

За даними Американської енциклопедії фармацевтичної технології концентрація цитратної кислоти в парентеральних розчинах не повинна перевищувати 5–15 ммоль/л [10]. Тому ми проводили дослідження зі встановлення залежності pH буферного розчину від його розведення для отримання розчину з допустимою концентрацією цитратної кислоти для інфузійних розчинів.

Як свідчать проведені дослідження, при додаванні 25 мл фосфатно-цитратного буферного розчину з pH 5,5 до 450 мл води досягається

pH 5,66, яке при подальшому додаванні фосфатно-цитратного буферного розчину (pH 5,5) не змінюється. При додаванні 25 мл фосфатно-цитратного буферного розчину pH 5,5 у кінцевому розчині встановлюється концентрація цитратної кислоти моногідрату близько 2 ммоль/л.

Подальші дослідження були скеровані на встановлення залежності pH 0,5 % розчину метронідазолу від кількості доданого буферного розчину. За монографією ДФУ на «Метронідазол», метронідазол – 2-(2-Метил-5-нітро-1H-імідазол-1-іл) етанол, кристалічний порошок білого або жовтавого кольору. Ця субстанція малорозчинна у воді Р, ацетоні Р, 96% спирті Р і метилхлориді Р [12]. pH 0,5 % розчину метронідазолу становить біля 5,0.

При додаванні 18,4–30,8 мл фосфатно-цитратного буферного розчину (pH 5,5) до 950 мл розчину метронідазолу у розчині створюється pH 5,19–5,20. Подальше додавання фосфатно-цитратного буферного розчину не доцільне, оскільки призводить до збільшення вмісту цитратної кислоти без зміни pH. Тому для збільшення pH розчину ми використовували лужний компонент фосфатно-цитратного буферного розчину – розчин 28,4 г/л динатрію гідрофосфату безводного (табл. 1).

Таблиця 1. Залежність pH 0,5 % розчину метронідазолу від кількості доданого буферного розчину

№ за/п	Сумарний доданий об'єм буферного розчину до 950 мл 0,5 % метронідазолу, мл	pH (норма 5,4–6,0)	Доданий об'єм динатрію гідрофосфату, мл	Розрахована кількість цитратної кислоти в отриманому розчині, ммоль/л
1	6,0	5,09		0,25
2	12,4	5,14		0,50
3	18,4	5,19		0,75
4	24,6	5,20		1,00
5	30,8	5,19		1,25
6		5,30	1,0	1,25
7		5,40	2,2	1,25
8		5,50	3,2	1,25

Ми провели дослідження з ідентифікації і кількісного визначення натрію хлориду та метронідазолу. Вміст натрію хлориду до стерилізації становив 8,4 мг/мл, метронідазолу 5,32 мг/мл. У структурі спектра метронідазолу був присутній максимум за довжини хвилі 277,1 нм і мінімум – за довжини хвилі 240,1 нм. Отримані дані узгоджуються з вимогами монографії ДФУ на субстанцію метронідазолу [12].

pH розчину після термічної стерилізації при 121 °C протягом 15 хв не змінилося. Структура спектра метронідазолу після стерилізації також не змінилась. Кількісний вміст натрію хлориду і метронідазолу після термічної стерилізації майже не змінився і становив 8,4 і 5,26 мг/мл відповідно.

У результаті проведених досліджень встановлено, що для приготування 1 л 0,5 % розчину мет-

ронідазолу з pH близько 5,5 необхідно взяти 8,0 г натрію хлориду, 0,1 г динатрію едетату, 0,263 г кислоти цитратної моногідрату (1,25 ммоль) та 0,5–0,6 г динатрію гідрофосфату безводного, які необхідно додати у вигляді фосфатно-цитратного буфера і розчину 28,4 г/л динатрію гідрофосфату безводного на стадії приготування розчину.

Висновки. У результаті проведених досліджень встановлені концентрації буферних речовин, регулятора осмолярності (натрію хлорид) і комплексоутворювача (динатрію едетат) для стабілізації 0,5 % інфузійного розчину метронідазолу. Підходи з вибору якісного та кількісного складу допоміжних речовин, які регулюють pH та осмолярність ЛЗ, можуть бути використані у розробці складу і технології інших парентеральних ЛЗ, очних крапель на етапі підбору та встановлення концентрації допоміжних речовин.

Література

1. A randomized treatment trial: single versus 7 day dose of metronidazole for the treatment of trichomonas vaginalis among HIV-infected women / P. Kissinger, L. Mena, J. Levison [et al.] // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. – 2010. – № 5. – P. 565–571.
2. Lofmark S. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections / S. Lofmark, C. Edlund, C. E. Nord // Clin. Infect. Dis. – 2010. Vol. 1, Suppl. 1. – P.16–23.
3. Brook I. Antimicrobial treatment of anaerobic infections / I. Brook // Expert Opin. Pharmacother. – 2011. – Apr 21. [Epub ahead of print].
4. Державний Формуляр лікарських засобів, затверджений наказом МОЗ України від №159 від 23 березня 2011р. «Про затвердження третього випуску Державного формуляру лікарських засобів та забезпечення його доступності».
5. Фармакологія: підручник для студентів стоматологічних факультетів / Чекман І. С., Бобиринов В. М., Горчакова Н. О. та ін. – Вінниця: Нова книга, 2009. – 480 с.
6. Безуглая Е. П. Методологический подход к фармацевтической разработке лекарственных препаратов и ее стандартизация / Е. П. Безуглая, Н. А. Ляпунов, В. А. Бовтенко // Фармаком. – 2008. – № 4. – С. 75–82.
7. Критерії вибору допоміжних речовин для рідких парентеральних лікарських засобів / Н. І. Гудзь, Р. С. Коритнюк, Т. Г. Калинюк [та ін.] // Фармацевтичний часопис. – 2009. – № 4. – С. 31–37.
8. Науменок Л. Г. Разработка состава и технологии раствора дротаверина гидрохлорида 2 % для инъекций с использованием буферных систем // Фармаком. – 2007. – № 3. – С. 86–89.
9. Фармацевтична енциклопедія // <http://www.pharmacencyclopedia.com.ua>.
10. Encyclopedia of pharmaceutical technology. Third Edition. Edited by James Swarbrick. New York, London: Informa healthcare. – 2007. – 4372 p.
11. Біофізична та колоїдна хімія / Мороз А. С., Яворська Л. П., Луцевич Д. Д. [та ін.]. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. – 600 с.
12. Державна фармакопея України / 1-ше вид. -Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2001. – 537 с; Доповнення 2.– Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА И КОНЦЕНТРАЦИИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКЕ РАСТВОРА МЕТРОНИДАЗОЛА ДЛЯ ИНФУЗИЙ

Н. И. Гудзь, Т. Г. Калынюк, Я. В. Назарук

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

Резюме: основы качества, эффективности и безопасности лекарственных средств (ЛС) закладываются на этапе фармацевтической разработки. Поэтому с целью создания ЛС, которые будут отвечать фармакопейным требованиям и заявленным целям, необходимо провести ряд научно обоснованных теоретических и экспериментальных исследований, которые докажут, что предложенные компонентный состав, лекарственная форма, производственный процесс и первичная упаковка являются соответствующими и оптимальными. Нами были проведены экспериментальные исследования относительно выбора вспомогательных веществ на примере инфузионного раствора метронидазола. В результате проведенных исследований было установлено, что для приготовления 1 л 0,5 % инфузионного раствора метронидазола необходимо прибавить 8,0 г натрия хлорида, 0,1 г динатрия эдетата, 0,263 г цитратной кислоты безводной и 0,5-0,6 г динатрия гидрофосфата безводного. Приготовленный раствор стабилен после стерилизации. Показатели pH, количественного содержания метронидазола и натрия хлорида были близки к значениям до стерилизации.

Ключевые слова: метронидазол, фармацевтическая разработка, вспомогательные вещества, pH-регулирующие вещества.

SUBSTANTIATION OF THE CHOICE AND CONCENTRATION OF EXCIPIENTS DURING PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT OF METRONIDAZOLE INTRAVENOUS INFUSION

N. I. Hudz, T. H. Kalyniuk, Ya. V. Nazaruk

Lviv National Medical University by Danylo Halyskyi

Summary: drug product quality, effectiveness and safety are put on the stage of pharmaceutical development. It is necessary to conduct scientific-based theoretical and experimental researches in order to develop a drug product, which will be meet requirements of Pharmacopeia. These researches have to prove that the proposed formulation, the

selected type of dosage form, technological process and package materials are suitable for the intended use. The experimental researches regarding the choice of the excipients were conducted on example of metronidazole intravenous infusion. In this study it was established the following; for preparation of 1 l of metronidazole intravenous infusion about pH 5,5 it is necessary to add 8,0 g of sodium chloride, 0,1 g sodium edetate, 0,263 g of citric acid monohydrate and of 0,5-0,6 g disodium phosphate. The intravenous infusion containing metronidazole was physically and chemically stable after sterilization: the sodium chloride and metronidazole concentrations and pH were close to the initial values.

Key word: metronidazole, pharmaceutical development, excipients, pH-adjusting excipients.