

О.Г. Парахневич<sup>1</sup>, Т.В. Трухачева<sup>1</sup>, Т.М. Ермоленко<sup>1</sup>, А.И. Жебентяев<sup>2</sup>

## СОСТАВ, ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ГЛАЗНЫХ КАПЕЛЬ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СИНДРОМА СУХОГО ГЛАЗА

<sup>1</sup>РУП «Белмедпрепараты», г. Минск

<sup>2</sup>Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

*Разработан состав глазных капель типа «искусственная слеза» на основе полимерной композиции гипромеллозы и декстрана 60. Сбалансированный состав глазных капель обеспечивает значение рН 7,4, осмоляльность в пределах 280-290 мОсм/кг, вязкость около 8 мПа·с. Разработана технология получения глазных капель, которая позволяет обеспечить качество лекарственного средства на протяжении срока годности 2 года.*

*Определены показатели качества для глазных капель. Для оценки качества глазных капель разработаны методики качественного и количественного анализа, которые включены в фармакопейную статью производителя (ФСП) на лекарственное средство Искусственная слеза производства РУП «Белмедпрепараты». Установлены нормы качества по всем показателям.*

*Подобраны условия разделения полимеров гипромеллозы и декстрана 60 и разработана единая методика их количественного определения спектрофотометрическим методом. Разработана методика количественного определения консерванта бензалкония хлорида спектрофотометрическим методом. Методики провалидированы.*

*Изучена стабильность глазных капель Искусственная слеза в условиях долгосрочных испытаний при температуре (25±2)°С и относительной влажности (60±5)% в течение 2 лет.*

*Ключевые слова: искусственная слеза, капли глазные, гипромеллоза, декстран, бензалкония хлорид.*

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы офтальмологи отмечают резкое увеличение числа пациентов, предъявляющих жалобы на зуд, покраснение, усталость, «сухость» в области

глаз и век. Подобные жалобы являются следствием нарушений состояния слезной пленки и слезопродукции, развивающихся на почве компьютерного и офисного синдромов, ношения мягких контактных линз, после кераторефракционных операций, и

относятся к симптомам синдрома «сухого глаза» (ССГ) [1]. Кроме того, местное применение бетаблокаторов, противовоспалительных и гормональных лекарственных средств способствует развитию ССГ [2].

Основным направлением в местной терапии лечения ССГ является применение средств типа «искусственная слеза», действие которых способствует восстановлению слезной пленки. Как правило, это водные растворы гидрофильных биологически инертных полимеров (производные метилцеллюлозы, поливинилового спирта, поливинилпирролидон, полиэтиленгликоль, пропиленгликоль, декстран, гиалуроновая кислота и др.) с включением различных консервантов и неорганических солей.

Прочную позицию в качестве лекарственного средства для лечения синдрома сухого глаза занимают растворы гипромеллозы в концентрациях 0,3-0,6% (Дефислез, Лакрисифи, Слезин и др.). Гипромеллоза уменьшает поверхностное натяжение, хорошо фиксируется на поверхности роговицы, обеспечивает увлажнение и тем самым снимает симптомы сухости и дискомфорта глаза. Продлить увлажняющий эффект позволяют полимерные композиции за счет способности своих структур удерживать молекулы воды и увеличивать вязкость растворов. Наибольшей популярностью пользуется композиция на основе гипромеллозы и декстрана 70, входящая в состав глазных капель Слеза натуральная.

На фармацевтическом рынке нашей страны представлен небольшой выбор лекарственных средств типа «искусственная слеза». Зарегистрированы и разрешены к применению глазные капли на основе гипромеллозы (Слеза натуральная II, Слезин, Дефислез) и гели на основе карбомера (Видисик, Офтагель), пропиленгликоля и гидроксипропилгуара (Систейн). Все эти лекарственные средства достаточно дорогие для массового применения, поэтому актуальной задачей является разработка и освоение промышленного выпуска отечественного лекарственного средства для лечения больных с ССГ.

Целью настоящего исследования была разработка состава, технологии приготовления и стандартизация глазных капель типа «искусственная слеза» на основе полимерной композиции гипромеллозы и декстрана 60 для лечения синдрома «сухо-

го глаза».

Для выполнения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- подобрать сбалансированный состав лекарственного средства, отвечающий основным критериям глазных капель;
- определить стандартные показатели качества и разработать методики контроля качества;
- изучить стабильность лекарственного средства.

В качестве решения первоочередной задачи нами предложен состав на основе полимерной композиции гипромеллозы и декстрана 60 с включением вспомогательных веществ, обеспечивающих изотоничность и изотоничность глазных капель.

Общепринятые методики, приведенные в Государственной фармакопее Республики Беларусь (ГФ РБ) [3], использовали для определения стандартных показателей качества: подлинности, прозрачности, цветности, вязкости, рН, осмоляльности и стерильности.

Разработка методик количественного определения действующих веществ гипромеллозы и декстрана, а также консерванта бензалкония хлорида в глазных каплях представляет собой сложную задачу.

В Британской Фармакопее описан поляриметрический метод количественного определения декстрана в лекарственных средствах, таких как кровезаменители [4]. Однако, как показали экспериментальные данные, низкая концентрация декстрана (0,1%) в составе глазных капель не позволяет проводить анализ с достаточной точностью.

Методика количественного определения гипромеллозы, основанная на измерении оптических плотностей окрашенных соединений продуктов кислотного гидролиза с дифениламином, описана в частной статье «Офтальмологический раствор гипромеллозы» Американской Фармакопее [5]. Данная методика количественного определения гипромеллозы является непригодной в присутствии декстрана, поскольку продукты гидролиза обоих полимеров взаимодействуют с дифениламином. Методика количественного определения гипромеллозы и декстрана при их совместном присутствии в составе лекарственного средства в литературе не описана. Поэтому актуальной задачей является

разработка методики количественного определения действующих веществ гипромеллозы и декстрана в разработанных глазных каплях Искусственная слеза. Экспериментальные исследования, направленные на выбор приемлемой методики для количественного определения гипромеллозы и декстрана в растворе, позволили нам разработать валидную методику на основе спектрофотометрического метода в видимой области спектра. Для разработки методики использовали реакцию взаимодействия продуктов кислотного гидролиза декстрана и гипромеллозы с дифениламином. Необходимым условием для выполнения анализа является проведение пробоподготовки, обеспечивающей разделение полимеров.

Для количественного определения консерванта бензалкония хлорида в лекарственных средствах используют в основном спектрофотометрический метод и метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), в том числе и для контроля качества ряда глазных капель производства РУП «Белмедпрепараты». Однако, методики с использованием указанных методов оказались невоспроизводимыми применительно к вязким растворам, содержащим гипромеллозу.

В литературе описана методика определения бензалкония хлорида методом ВЭЖХ в вязких растворах для офтальмологии на основе производных целлюлозы [6]. Применение для разработанных глазных капель этой методики с использованием в качестве внутреннего стандарта цетилпиридиния хлорида не привело к улучшению воспроизводимости результатов.

Устранить влияние гипромеллозы на результаты анализа и разработать валидную методику количественного определения бензалкония хлорида нам удалось при использовании спектрофотометрического метода и снижении концентрации гипромеллозы в испытуемых растворах. Отличие разработанной методики от применяемой для контроля качества ряда глазных капель производства РУП «Белмедпрепараты» состоит в изменении условий проведения хлороформной экстракции: экстрагируемые хлороформом окрашенные соединения бензалкония хлорида, образованные в присутствии раствора аммиака и пикриновой кислоты, дают более высокие оптические плотности, чем соединения

бензалкония хлорида, образованные в присутствии натрия гидроксида и пикриновой кислоты.

Разработанные методики применяли для оценки качества лекарственного средства Искусственная слеза в процессе изучения стабильности в условиях долгосрочных испытаний.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

При разработке состава и технологии получения глазных капель типа «искусственная слеза» использовали полимерные композиции на основе гипромеллозы (НД РБ 0919-2010, Dow Chemical Company, США) и декстрана 70 (кат. № 31390, Sigma-Aldrich, США, Швейцария), гипромеллозы и декстрана 60 (НД РБ 0851С-2010, Pharmacosmos A/S, Дания). В качестве вспомогательных веществ для обеспечения стабильности, изотоничности и буферных свойств раствора использовали динатрия фосфата дигидрат, натрия дигидрофосфата дигидрат, натрия хлорид, динатрия эдетат, натрия тетраборат, бензалкония хлорид и воду для инъекций, отвечающие требованиям Государственной фармакопеи Республики Беларусь.

Приготовление экспериментальных растворов при разработке составов заключалось в смешивании отдельно приготовленных растворов гипромеллозы и других компонентов состава ЛС. Для этого в одну емкость с нагретой до 70-80°C водой для инъекций загружали гипромеллозу, перемешивали до образования однородной массы и выдерживали при температуре от 2 до 8°C в течение не менее 4 ч. В другой емкости растворяли остальные компоненты и полученный раствор присоединяли к раствору гипромеллозы при перемешивании.

Для получения стерильного продукта использовали метод стерилизующей фильтрации. Для стерилизующей фильтрации применяли мембранные фильтры производства фирмы Миллипор на основе полиэфирсульфона Express Plus (код фильтра GPWP) диаметром 142 мм и размером пор 0,2 мкм.

Экспериментальные образцы лекарственного средства были наработаны в асептических условиях по 1 мл в полиэтиленовых тубик-капельницах.

В соответствии с требованиями, изло-

женными в ТКП 123-2008 (02040) [7], для контроля качества глазных капель в проект ФСП были включены следующие разделы: описание, подлинность, прозрачность, цветность, рН, вязкость, осмоляльность, извлекаемый объем, стерильность, количественное определение гипромеллозы и декстрана, бензалкония хлорида, упаковка, маркировка, хранение, срок годности.

Подлинность компонентов состава ЛС подтверждали качественными реакциями на фосфаты, хлориды и натрий, описанными в разделе 3.2.1. «Реакции подлинности (идентификации) на ионы и функциональные группы» [3].

Наличие в составе лекарственного средства гипромеллозы, декстрана и бензалкония хлорида подтверждали при выполнении методик их количественного определения.

Определение вязкости лекарственного средства проводили на капиллярном вискозиметре в соответствии с требованиями раздела 2.2.8. «Вязкость» [3]. Диапазон значений вязкости установлен от 5,0 до 15,0 мПа·с и характерен для пролонгированных форм глазных капель.

Измерение осмоляльности лекарственного средства проводили на осмометре МТ-5-02 в соответствии с требованиями раздела 2.2.35 «Осмоляльность» [3]. Значения для осмоляльности установлены в диапазоне от 270 до 360 мОсм/кг, который характерен для изотоничных растворов.

Нормы по показателям «Прозрачность», «Цветность» и «рН» определяли для лекарственного средства в процессе изучения стабильности ГЛФ. Требования по этим показателям устанавливали по фактическим результатам проведенных экспериментов: лекарственное средство должно быть прозрачным или не интенсивнее эталона мутности I; лекарственное средство должно быть бесцветным; значения рН регламентируются от 6,5 до 7,8.

При разработке методики количественного определения действующих веществ гипромеллозы и декстрана использовали спектрофотометрический метод.

Для приготовления испытуемых растворов гипромеллозы и декстрана исследовали два способа разделения полимеров.

Первый способ основан на высаливании гипромеллозы из ЛС в присутствии натрия сульфата. Готовили насыщенный раствор натрия сульфата (концентрация

около 125 г/л), который добавляли к лекарственному средству и центрифугировали при 6000 об/мин в течение 30 мин. Затем с образовавшегося осадка сливали жидкость, разводили водой до концентрации декстрана около 80 мкг/мл и использовали для количественного определения. Солевой осадок гипромеллозы растворяли в воде до получения концентрации около 120 мг/мл и использовали для количественного определения.

Второй способ основан на нагревании лекарственного средства до температуры 90°C с последующим отделением образующегося осадка гипромеллозы путем горячей фильтрации. Осадок гипромеллозы растворяли в воде до получения концентрации около 120 мг/мл и использовали для количественного определения. Отфильтрованный раствор разводили водой до концентрации декстрана около 80 мкг/мл и использовали для количественного определения.

На основании проведенного исследования была разработана единая спектрофотометрическая методика количественного определения действующих веществ гипромеллозы и декстрана, основанная на измерении при длине волны 635 нм оптических плотностей окрашенных растворов после проведения кислотного гидролиза полимеров и взаимодействия продуктов гидролиза с дифениламином. Гидролиз проводили для испытуемых растворов и растворов сравнения гипромеллозы (концентрация 120 мкг/мл) и декстрана (концентрация 80 мкг/мл).

Измерение оптических плотностей полученных растворов после гидролиза осуществляли на спектрофотометрах Specord M 40 и SP-8001.

Разработанную методику исследовали по валидационным характеристикам: специфичность, линейность, прецизионность (сходимость и внутрिलाбораторная воспроизводимость), правильность, диапазон применения. Выполнение валидации методики проводили в соответствии с требованиями и рекомендациями, описанными в [3,8].

При разработке методики количественного определения бензалкония хлорида использовали метод ВЭЖХ и спектрофотометрический метод.

На основании проведенных исследований была разработана спектрофотометри-

ческая методика количественного определения бензалкония хлорида в растворах, содержащих гипромеллозу. Для выполнения методики проводили пробоподготовку: разведение лекарственного средства в 2,5 раза (испытуемый раствор). Готовили раствор сравнения бензалкония хлорида в концентрации 0,03 мг/мл.

Методика основана на измерении оптических плотностей хлороформных извлечений бензалкония хлорида. Предварительно были подобраны оптимальные условия проведения экстракции бензалкония хлорида: 10,0 мл испытуемого раствора или раствора сравнения бензалкония хлорида помещали в делительную воронку, добавляли 5,0 мл воды, 2,0 мл раствора аммиака разведенного, 2,0 мл 0,1 г/л раствора кислоты пикриновой и дважды экстрагировали хлороформом. Хлороформные извлечения фильтровали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем экстракта до метки хлороформом.

Измерение оптических плотностей полученных растворов проводили при длине волны 363 нм на спектрофотометрах Spectord M 40 и SP-8001. Определение количественного содержания бензалкония хлорида в ЛС осуществляли при сравнении значений оптических плотностей, полученных при анализе испытуемого раствора и раствора сравнения бензалкония хлорида.

Разработанную методику исследовали по валидационным характеристикам: специфичность, линейность, прецизионность (сходимость и внутрилабораторная

воспроизводимость), правильность, диапазон применения. Выполнение валидации методики проводили в соответствии с требованиями и рекомендациями, описанными в [3,8].

Изучение стабильности образцов лекарственного средства проводили в условиях долгосрочных испытаний при температуре  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $(60 \pm 5)\%$  через каждые 3 месяца в течение первого года хранения и далее каждые 6 месяцев в течение второго года хранения. При изучении стабильности опытных образцов лекарственного средства оценивали основные показатели качества: pH, прозрачность, цветность, осмоляльность, вязкость, количественное содержание гипромеллозы, декстрана, консерванта бензалкония хлорида, стерильность.

Исследование стабильности вскрытых тубик-капельниц проводили в течение 28 дней. Вскрытые тубик-капельницы с лекарственным средством хранили при температуре от  $15^\circ\text{C}$  до  $25^\circ\text{C}$  в защищенном от света месте. Контроль на стерильность проводили через каждые 7 суток после вскрытия тубик-капельницы. Контроль по физико-химическим показателям качества проводили на момент вскрытия тубик-капельницы, через 14, 21 и 28 суток.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При разработке лекарственной формы нами были приготовлены экспериментальные растворы двух составов:

### Состав 1

гипромеллоза	3,0 мг
декстран 70	1,0 мг
динатрия эдетат	0,5 мг
натрия хлорид	7,7 мг
бензалкония хлорид	0,07 мг
калия хлорид	1,2 мг
натрия тетраборат	0,1-0,2 мг
вода для инъекций	до 1 мл

Состав 1 содержит полимерную композицию гипромеллозы и декстрана 70 и близок по качественному и количественному содержанию компонентов глазным каплям Слеза натуральная. Приемлемое для глазных капель значение pH 7,4 достигалось за счет корректировки количества натрия тетрабората.

### Состав 2

гипромеллоза	3,0 мг
декстран 60	1,0 мг
динатрия эдетат	0,2 мг
натрия хлорид	5,0 мг
бензалкония хлорид	0,07 мг
динатрия фосфата дигидрат	7,8 мг
натрия дигидрофосфата дигидрат	1,3 мг
вода для инъекций	до 1 мл

Состав 2 предложен нами по результатам предварительных исследований по выбору вспомогательных компонентов для глазных капель: фосфатные соли натрия обеспечивают значение pH глазных капель 7,4; натрия хлорид обеспечивает изотоничность; в качестве стабилизатора использу-

ется династрия эдетат и консерванта – бензалкония хлорид. В составе 2 в качестве второго полимера использовали декстран 60, который является доступным сырьем и входит в качестве действующего вещества в состав кровезаменителей, выпускаемых РУП «Белмедпрепараты».

Выбор подходящего состава основывался на результатах, полученных при изучении стабильности наработанных образцов ЛС в условиях долгосрочных испытаний при температуре хранения ( $25 \pm 2$ )°С и относительной влажности ( $60 \pm 5$ )%. Для лекарственных форм, приготовленных согласно составу 1 и 2, на момент изготовления значения рН составляли 7,4; осмоляльности – 280-290 мОсм/кг, вязкости – около 8 мПа·с. После 3-х месяцев хранения в лекарственной форме состава 1 наблюдали увеличение значения рН до 8,0, в то время как разработанный состав 2 обеспечивал постоянное значение рН 7,4. Таким образом, в качестве лекарственного средства для лечения синдрома «сухого глаза» был выбран состав 2, который наряду со стабильностью показателей качества имеет преимущество в технологии приготовления раствора – не требуется корректировка значения рН.

Для лекарственной формы выбранного состава были разработаны методики идентификации входящих компонентов. Подлинность гипромеллозы основана на способности раствора полимера при нагревании выше 50°С становиться мутным и при охлаждении вновь становиться прозрачным. Присутствие в составе лекарственного средства солей фосфата натрия подтверждается качественной реакцией на фосфаты (ГФ РБ, реакция d), основанной на способности фосфат-ионов образовывать с ионом магния в присутствии хлорида аммония и раствора аммиака белый кристаллический осадок  $MgNH_4PO_4$ . Наличие в составе лекарственного средства натрия хлорида подтверждается качественной реакцией на хлориды (ГФ РБ, реакция a), основанной на способности хлорид-иона образовывать с нитратом серебра белый творожистый осадок. Натрий определяется в остатке после выпаривания ЛС, для определения используется способность натрия окрашивать бесцветное пламя в желтый цвет (ГФ РБ 2.3.1, реакция c). В процессе разработки методик количественного определения гипромеллозы,

декстрана, бензалкония хлорида были также разработаны дополнительные методики идентификации указанных веществ.

С целью определения содержания декстрана в глазных каплях была предпринята попытка разработать методику на основе поляриметрического метода, широко используемого для количественного определения декстрана в инъекционных и инфузионных растворах. При определении декстрана поляриметрическим методом было выявлено, что низкая концентрация декстрана в лекарственном средстве (0,1%) не позволяет проводить анализ с достаточной точностью. Экспериментальные исследования подтвердили, что достоверные результаты при количественном определении декстрана поляриметрическим методом получаются при его концентрации не менее 1-2%. Следовательно, чтобы использовать поляриметрический метод, лекарственное средство необходимо сконцентрировать в 10-20 раз. Данная пробоподготовка требует большого объема лекарственного средства (100-200 мл) и достаточно трудоемка, что делает ее малоприменимой для практического применения.

Апробация методики определения содержания гипромеллозы спектрофотометрическим методом, описанной в частной статье «Офтальмологический раствор гипромеллозы» Американской Фармакопеи, показала, что присутствие декстрана в растворе влияет на количественное определение гипромеллозы. Методика основывается на проведении гидролиза 2,0 мл 100 г/л раствора гипромеллозы с 5,0 мл раствора дифениламина (3,75 г дифениламина растворяют в 150 мл ледяной уксусной кислоты и 90 мл кислоты хлористоводородной) при температуре от 105 до 110°С в течение 30 мин в масляной бане и последующем измерении оптических плотностей анализируемых растворов (испытуемого и раствора сравнения) при длине волны 635 нм. В таких условиях проведения анализа образуются окрашенные соединения как с гипромеллозой, так и с декстраном. Для определения каждого полимера, входящего в состав лекарственного средства Искусственная слеза, необходимо проводить пробоподготовку исследуемого вещества.

Таким образом, при разработке теста «Количественное определение» необходимо было разделить активные составляющие полимерной композиции гипромелло-

зы и декстрана 60. Известно, что в присутствии насыщенных растворов неорганических солей происходит солевое осаждение высокомолекулярных соединений. Нами предложено осаждение гипромеллозы из ЛС при нагревании выше 50°C, основанное на нерастворимости полимера в горячих растворах (растворы мутнеют) и на образовании хлопьевидного осадка гипромеллозы в присутствии солей, входящих в состав ЛС.

С целью выбора способа пробоподготовки были исследованы два пути разделения:

- 1) солевое осаждение гипромеллозы при добавлении натрия сульфата в ЛС и,
- 2) нагревание раствора до образования хлопьевидного осадка гипромеллозы с последующим его отделением.

Результаты исследования показали, что при солевом осаждении гипромеллозы из лекарственного средства в присутствии натрия сульфата образовавшийся осадок полимера практически невозможно количественно собрать из-за оседания на стенках центрифужных пробирок и попадания в раствор для определения декстрана. К тому же, последующая стадия приготовления раствора гипромеллозы путем растворения солевого осадка в воде длительная, что связано с уменьшением растворимости полимера в солевых растворах.

Оптимальным оказался способ осаждения гипромеллозы при нагревании до 90°C с последующей горячей фильтрацией осадка, который затем растворяли в воде и использовали для количественного определения гипромеллозы. Фильтрат использовали для количественного определения декстрана. Данная методика позволяет сократить время пробоподготовки, осаждение гипромеллозы осуществляется полнее по сравнению с высаливанием. Полученные таким образом испытуемые растворы гипромеллозы и декстрана являются пригодными для количественного определения каждого полимера спектрофотометрическим методом.

На основании проведенных исследований для количественного определения гипромеллозы и декстрана были подобраны следующие условия пробоподготовки: 10,0 мл лекарственного средства помещают в стакан и выдерживают в водяной бане в течение 10 минут для образования осадка гипромеллозы. Горячий раствор быстро фильтруют через мембранный фильтр с

размером пор 3 мкм, предварительно промытый и нагретый горячей водой. Осадок на мембране быстро промывают 30 мл горячей воды. Фильтрат и промывную воду собирают в колбу для фильтрации.

Мембранный фильтр с осадком помещают в стакан, добавляют 50 мл горячей воды и перемешивают в течение 10 мин. Затем стакан помещают в ледяную баню на 40 мин, продолжая перемешивание. Раствор переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, оставляют для нагревания до комнатной температуры и доводят объем раствора водой до метки (испытуемый раствор гипромеллозы, концентрация около 120 мкг/мл).

Фильтрат с промывной водой переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. 10,0 мл полученного раствора доводят водой до 25,0 мл (испытуемый раствор декстрана, концентрация около 80 мкг/мл).

Для проведения анализа готовят растворы сравнения гипромеллозы в концентрации 120 мкг/мл и декстрана – 80 мкг/мл.

В ходе разработки методики были подобраны условия проведения кислотного гидролиза растворов гипромеллозы и декстрана с раствором дифениламина: выдерживание анализируемых растворов (в пяти повторностях) в водяной бане в течение 30 мин.

Методика провалидирована: доказана избирательность, линейность (коэффициент корреляции при определении гипромеллозы и декстрана – 0,999), сходимость (RSD, %: гипромеллоза – 1,82, декстран – 1,65), воспроизводимость (RSD, %: гипромеллоза – 2,54, декстран – 1,44) и правильность (в пределах от 92,2 до 92,5% для гипромеллозы и от 100,9 до 102,3% для декстрана). Поскольку для измерений спектрофотометрическим методом концентрации гипромеллозы и декстрана в анализируемых растворах составляют около 0,1 мг/мл, то принимая во внимание рекомендации [8], критерии приемлемости (RSD) допускали для сходимости до 4,3%; для внутрилабораторной воспроизводимости до 5,3%; процент восстановления устанавливали в пределах от 90 до 107%; диапазон применения данной методики для определения гипромеллозы составил от 2,4 до 3,6 мг/мл, декстрана от 0,8 до 1,2 мг/мл.

В соответствии с требованиями ГФ РБ установлены нормы по содержанию действующих веществ: гипромеллозы от 2,7 до 3,3 мг/мл и декстрана от 0,9 до 1,1 мг/мл.

В условиях выполнения методики количественного определения декстрана и гипромеллозы разработаны тесты на подлинность гипромеллозы и дифениламина, и декстрана: (испытываемые растворы гипромеллозы и декстрана должны иметь окраску от сине-зеленой до синей в результате реакции с раствором дифениламина).

Для обеспечения стерильности лекарственного средства Искусственная слеза при применении в качестве консерванта использовали бензалкония хлорид в концентрации 0,07 мг/мл. С целью количественного определения бензалкония хлорида была апробирована методика ВЭЖХ. Для анализа использовали хроматографическую колонку «Hypersil Gold CN, Thermo» (250×4 мм, 5 мкм), заполненную силикагелем цианосилильным. В качестве подвижной фазы была выбрана смесь сульфатного буферного раствора рН 2,3 и ацетонитрила (55:45, об/об); детектирование проводили при длине волны 214 нм. Данные условия пригодны для проведения анализа и получения достоверных результатов количественного содержания бензалкония хлорида в глазных каплях Дексаметазон, Гентадекс и др., выпускаемых РУП «Белмедпрепараты». Однако полученные хроматограммы показали отсутствие воспроизводимости результатов количественного определения бензалкония хлорида в глазных каплях Искусственная слеза. Экспериментальным путем было обнаружено, что бензалкония хлорид сорбируется на гипромеллозе, вследствие чего площади пиков бензалкония хлорида даже из одного испытываемого раствора существенно различаются. Чтобы устранить влияние гипромеллозы на результат количественного определения бензалкония хлорида, необходимо снизить ее концентрацию в испытываемых растворах ЛС. Разбавление лекарственного средства не привело к получению точных результатов вследствие слабого отношения сигнал/концентрация для пиков бензалкония хлорида.

Была апробирована методика, описанная в работе [6], с применением внутреннего стандарта цетилпиридиния хлорида. Анализ проводили на хроматографической

колонке, заполненной силикагелем цианосилильным, с использованием в качестве подвижной фазы смеси раствора перхлорной кислоты рН 2,2, ацетонитрила и тетрагидрофурана (62:33:5, об/об). Показано, что цетилпиридиния хлорид также сорбируется на гипромеллозе и степень его сорбции в 2-3 раза превышает степень сорбции бензалкония хлорида. Следовательно, использовать его в качестве внутреннего стандарта не представляется возможным.

Для разработки приемлемой методики определения бензалкония хлорида в присутствии гипромеллозы после разбавления лекарственного средства использовали спектрофотометрический метод. Результаты исследования по подбору условий проведения спектрофотометрического анализа показали, что оптимальные значения оптических плотностей и воспроизводимости результатов анализов достигаются при снижении концентрации гипромеллозы в лекарственном средстве в 2,5 раза и использовании хлороформной экстракции окрашенных комплексных соединений бензалкония хлорида, образовавшихся в присутствии аммиака и пикриновой кислоты. Сравнение разработанной нами методики с применяемой ранее спектрофотометрической методикой для определения бензалкония хлорида показало, что полученные комплексные соединения бензалкония хлорида дают более высокие оптические плотности (около 0,5), чем образованные в присутствии натрия гидроксид и пикриновой кислоты (около 0,3).

Методика провалидирована: доказана специфичность, линейность (коэффициент корреляции – 0,998), сходимость (RSD 3,44%), воспроизводимость (RSD 5,57%), правильность (в пределах 91,5-91,7%). Поскольку для измерений спектрофотометрическим методом концентрация бензалкония хлорида в хлороформных извлечениях составляет 0,01 мг/мл, то в данном случае, опираясь на рекомендации [8], критерии приемлемости (RSD) для сходимости допускали до 5,3%; для внутрिलाбораторной воспроизводимости – до 7,3%, процент восстановления устанавливали в пределах от 80 до 110%; диапазон применения методики составил от 0,056 до 0,104 мг/мл.

Разработанные методики качественного и количественного определения позволили оценить качество разработанного состава глазных капель Искусственная слеза

при изучении стабильности, проводимого в условиях долгосрочных испытаний при температуре  $(25\pm 2)$  °С и относительной

влажности  $(60\pm 5)\%$  в течение двух лет хранения. Результаты основных показателей качества представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты изучения стабильности ЛС Искусственная слеза в условиях долгосрочных испытаний при температуре  $(25\pm 2)$ °С и относительной влажности  $(60\pm 5)\%$  в течение двух лет хранения

№ серии	Требования проекта ФСП РБ							
	Прозрачность	Цветность	рН, 6,5-7,8	Осмоляльность, 270-360 мОсм/кг	Вязкость, 5-15 мПа·с	Гипромеллоза, 2,7-3,3 мг/мл	Декстран, 0,9-1,1 мг/мл	Бензалкония хлорид, 0,06-0,08 мг/мл
На момент изготовления								
010209	прозрачен	бесцветен	7,40	305	7,7	2,7	0,9	0,07
010809	прозрачен	бесцветен	7,40	284	6,7	2,7	1,1	0,07
Через 3 месяца хранения								
010209	прозрачен	бесцветен	7,40	303	8,0	2,8	1,1	0,08
010809	прозрачен	бесцветен	7,40	284	6,8	2,7	1,1	0,07
Через 6 месяцев хранения								
010209	прозрачен	бесцветен	7,40	305	8,1	2,7	1,0	0,07
010809	прозрачен	бесцветен	7,40	286	6,5	2,8	1,1	0,07
Через 9 месяцев хранения								
010209	прозрачен	бесцветен	7,40	305	8,0	2,7	1,1	0,07
010809	прозрачен	бесцветен	7,40	287	6,7	2,7	1,0	0,06
Через 12 месяцев хранения								
010209	прозрачен	бесцветен	7,35	307	7,9	2,7	1,1	0,08
010809	прозрачен	бесцветен	7,40	289	6,5	2,7	1,1	0,06
Через 18 месяцев хранения								
010209	прозрачен	бесцветен	7,35	305	8,0	2,8	1,1	0,08
010809	прозрачен	бесцветен	7,35	287	6,3	2,7	1,1	0,06
Через 24 месяца хранения								
010209	прозрачен	бесцветен	7,35	310	8,0	2,8	1,1	0,08
010809	прозрачен	бесцветен	7,35	290	6,3	2,7	1,1	0,06
Через 27 месяцев хранения								
010209	прозрачен	бесцветен	7,35	311	7,5	2,7	1,1	0,07
010809	прозрачен	бесцветен	7,35	292	6,0	2,7	1,1	0,06

Приведенные в таблице результаты долгосрочных испытаний подтверждают стабильность показателей качества лекарственного средства Искусственная слеза в течение срока годности 2 года. На протяжении периода изучения все исследуемые показатели качества лекарственного средства соответствовали нормам и требованиям, предусмотренным проектом ФСП РБ. В процессе хранения не наблюдалось изменения количественного содержания гипромеллозы и декстрана, полученные значения оставались в пределах погрешности методики. Препарат оставался прозрачным и бесцветным. Значения рН практически не менялись на протяжении всего периода наблюдения. В пределах погрешности методики определения оставались

значения по показателям осмоляльность и вязкость.

Выполненные аналитические исследования и результаты, полученные при изучении стабильности ЛС Искусственная слеза, позволили установить нормы для содержания бензалкония хлорида: от 0,06 до 0,08 мг/мл.

Лекарственное средство Искусственная слеза по 1 мл в тубик-капельницах предполагает многократное использование глазных капель пациентом в определенном временном интервале, в течение которого состав и технология получения должны обеспечивать стабильность всех показателей качества. В связи с этим для глазных капель были проведены исследования по изучению стабильности ЛС по

сле вскрытия тюбик-капельниц. Результаты проведенного исследования показали, что на протяжении 28 дней глазные капли во вскрытой тюбик-капельнице остаются стабильными по всем физико-химическим и микробиологическим показателям.

Дополнительно для глазных капель Искусственная слеза было проведено измерение плотности ( $1,01 \text{ г/см}^3$ ) и показателя преломления (1,336), которые соответствовали характерным для слезной жидкости: плотность  $1,005 \text{ г/см}^3$ , показатель преломления 1,336–1,337.

Таким образом, разработанное лекарственное средство Искусственная слеза, которое производится РУП «Белмедпрепараты», является качественным отечественным продуктом для лечения ССГ.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработан сбалансированный состав и технология получения глазных капель для лечения ССГ на основе полимерной композиции гипромеллозы и декстрана 60.

2. Определены показатели качества и разработаны методики стандартизации глазных капель Искусственная слеза.

3. Достигнуто полное разделение входящих в состав лекарственного средства действующих веществ гипромеллозы и декстрана в условиях пробоподготовки для количественного определения. Подобраны условия определения обоих полимеров с помощью единой спектрофотометрической методики. Методика провалидирована и включена в ФСП РБ на лекарственное средство Искусственная слеза производства РУП «Белмедпрепараты».

4. Разработана методика количественного определения консерванта бензалкония хлорида в вязких растворах, содержащих гипромеллозу и декстран, спектрофотометрическим методом. Показана возможность устранения влияния гипромеллозы путем разбавления анализируемого раствора. Методика провалидирована и включена в ФСП РБ на лекарственное средство Искусственная слеза производства РУП «Белмедпрепараты». На основании валидационных характеристик подтверждена обоснованность выбора данной методики и, соответственно, получение надежных результатов.

5. Результаты изучения стабильности

разработанного ЛС Искусственная слеза в условиях долгосрочного испытания при температуре  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $(60 \pm 5)\%$  показали, что лекарственная форма стабильна в течение двух лет хранения.

### SUMMARY

O.G. Parakhnevich, T.V. Trukhachova,  
T.M. Ermolenko A.I. Zhebentyaev  
STRUCTURE, TECHNOLOGY  
OF PREPARATION AND  
STANDARDIZATION

OF EYE DROPS FOR TREATMENT OF  
THE SYNDROME OF THE DRY EYE

The composition of eye drops of type «artificial tear» on the basis of a polymeric composition hypromellose and dextran 60 is developed. The balanced structure of the eye drops provides value pH 7,4, osmolarity 280-290 mosm/kg, viscosity nearby 8 mPa·s. The technology of preparation of the eye drops allows to provide quality of the preparation throughout all expiration date of 2 years.

Specification for eye drops is defined. Developed techniques of the qualitative and quantitative analysis are included in a monograph of the manufacturer (MOA) on a preparation Artificial tear by manufacture of RUE «Belmedpreparaty». Norms of quality are established.

Conditions of division of polymers hypromellose and dextran 60 are developed and the uniform technique of their quantitative definition by spectrophotometric method is designed. The spectrophotometric assay of benzalkonium chloride is developed. The techniques were validated.

Stability of eye drops Artificial tear in the conditions of long-term tests is studied at temperature  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$  and relative humidity  $(60 \pm 5)\%$  within 2 years.

Keywords: artificial tear, eye drops, hypromellose, dextran, benzalkonium chloride.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бржеский, В.В. Основные направления комплексного лечения больных с тяжелым и особо тяжелым синдромом «сухого глаза» / В.В. Бржеский, Е.Л. Ефимова, И.В. Калинина // Рецепт – Минск, 2007. – С. 101–106.

2. Бржеский, В.В. Роговично-конъюнктивальный ксероз (диагностика, клиника,

лечение)/ В.В. Бржеский, Е.Е. Сомов. – СПб.: Левша. Санкт-Петербург, 2003. – 120 с.

3. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 3 т. / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении», 2006–2009. – Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. Г.В. Годовальникова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии, 2006. – 656 с; – Т. 2. Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: «Типография «Победа», 2008. – 472 с.

4. British Pharmacopoeia 2009 [Электронный ресурс]. – Электрон., текстовые дан. и прогр. –Effective date: 1 January 2009. – CD-ROM version.

5. United States Pharmacopoeia 32 – National Formulary 27. The Official Compendia of Standards [Электронный ресурс]. – Электрон., текстовые дан. и прогр. – Official May 1, 2009. – Электрон.опт. диск

(CD-ROM).

6. Chiano-His Chaining, Jiin-long Chen,Ching-Tzi Tue. High pressure liquid chromatographic analysis of timolol and betaxolol in eye drops // J. Med. Sci. – 1991. – Vol.12 (2). – P. 86-95.

7. Фармакопейные статьи. Порядок разработки и утверждения: ТКП 123-2008 (02040) – Введ. 18.02.08. – Минск: Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 2008. – С.23.

8. Валидация аналитических методов исследования / Л.Р. Давлетбаева [и др.] // Медицинские иммунобиологические препараты в XXI веке: разработка, производство и применение.: Матер. Всеросс. конф. Ч. 1. – Уфа. – 2005. – С. 34-47.

**Адрес для корреспонденции:**

220007, Республика Беларусь,  
г. Минск, ул. Фабрициуса, 30,  
РУП «Белмедпрепараты»,  
тел./факс 8(017)220 31 42,  
e-mail: nfc@belmedpreparaty.com.  
Парахневич О.Г.

Поступила 02.09.2013 г.