

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

О.Г. Парахневич, Т.М. Ермоленко,
Т.В. Трухачева

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ГЛАЗНЫХ КАПЕЛЬ ТИМОЛОЛ

РУП «Белмедпрепараты», г. Минск

Тимолол - неселективный блокатор бета-адренорецепторов, используется в форме глазных капель для лечения глаукомы. В рамках программы импортозамещения РУП «Белмедпрепараты» была разработана технология получения отечественного лекарственного средства Тимолол, капли глазные 0,25% и 0,5%. Выбран оптимальный состав лекарственного средства, единый для двух концентраций тимолола – 0,25% и 0,5% растворов, обеспечивающий стабильность всех показателей качества в течение 3 лет.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что ведущим патогенетическим фактором, вызывающим повреждение зрительного нерва и ухудшение зрительных функций, является повышение офтальмотонуса и связанное с ним постоянное или периодическое повышение внутриглазного давления из-за увеличения и нарушения оттока водянистой влаги из глаза [1-3]. В последние годы в медицинской литературе активно обсуждается использование в офтальмологии высокоэффективного бета-адреноблокатора тимолола малеата для снижения внутриглазного давления (ВГД). Быстрый гипотензивный эффект и хорошая переносимость лекарственного средства (ЛС) позволили значительно увеличить возможности лекарственного лечения больных с различными формами глаукомы. Механизм гипотензивного действия тимолола заключается, в основном, в угнетении продукции влаги и небольшого увеличения ее оттока [5].

В многочисленных клинических исследованиях продемонстрирован достаточно высокий гипотензивный эффект тимолола в терапии открытоугольной, вторичной и закрытоугольной (в сочетании с миотиками) глаукомы. Наибольшая эффективность действия тимолола выявлена у больных первичной открытоугольной и афакичной глаукомой. В терапии глаукомы используются 0,25 и 0,5% растворы тимолола в виде глазных капель, разница в гипотензивном действии между которыми составляет 10-15% [4].

Целью настоящего исследования была разработка технологии получения отечественного лекарственного средства – глазных капель Тимолол.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При разработке состава и технологии получения глазных капель 0,25% и 0,5% растворов тимолола использовали субстанцию тимолола малеата (с. TML99200403) производства Pharmaros GmbH Germany / Suzhou N₀1 Pharmaceutical Factory, China, соответствующую по качеству требованиям Европейской Фармакопеи. Субстанция тимолола малеата (нормативная документация Республики Беларусь 0108-2008) зарегистрирована в Министерстве здравоохранения Республики Беларусь в 2005 г. В качестве вспомогательных веществ были использованы натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный (ГОСТ 4172-76), натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный (ГОСТ 245-76), натрия хлорид (ФСП 42-0324-1619-01), динатрия эдетат (ГОСТ 10652-73), бензалкония хлорид (Евр. Фарм.), вода для инъекций [6].

Опытные серии ЛС тимолол, раствор 0,25% и 0,5%, на которых изучалась стабильность и отработывались методики контроля качества, изготовлены с учетом основных требований правил технологии приготовления, фильтрации и розлива офтальмологических ЛС в условиях действующего производства. ЛС было приго-

товлено во флаконах по 5 мл из нейтрального стекла марки НС-1 или НС-3 по ТУ 9461-025-00480678-99 или ТУ 9461-010-00480514-99, укупоренных пробками резиновыми по ТУ У 6-00152253.013-96 или импортными типа V 9024 и обкатанных колпачками алюминиевыми по ТУ 9467-004-39798422-2004, а также по 1 мл в полиэтиленовых тубик-капельницах по ТУ РБ 100049731.075-2003.

Содержание тимолола в 0,25% и 0,5% растворах оценивали спектрофотометрическим методом при сравнении оптической плотности раствора ЛС с оптической плотностью раствора стандартного образца тимолола малеата. Определение проводилось при характеристической длине волны 294 нм, максимум поглощения является специфическим для данного соединения.

При изучении стабильности ЛС оценивали такие показатели качества, как рН, внешний вид раствора, количественное содержание активного вещества тимолола, консерванта бензалкония хлорида, осмоляльность, содержание посторонних примесей. Количественное содержание тимолола и бензалкония хлорида определяли спектрофотометрическим методом, измерением оптических плотностей при характеристических длинах волн 294 и 363 нм на спектрофотометре Specord M 40. Для обнаружения возможных продуктов разложения тимолола, образующихся в процессе хранения, применяли метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) с использованием пластин Silica gel 60 F 254 в системе растворителей хлороформ - спирт метиловый - аммиак водный (80:20:1) с последующим проявлением пластинки в парах йода. Значение рН растворов измеряли потенциометрически на иономере универсальном И-130, внешний вид раствора оценивали визуально. Определение осмоляльности ЛС осуществляли криоскопическим методом на приборе миллиосмометр-криоскопе термоэлектрическом МТ-5-02.

Для определения содержания посторонних примесей использовался метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). ЛС наносили на ТСХ пластинку Silica gel 60 F 254 фирмы Merck в количестве 100 мкг,

пластинку элюировали в системе растворителей хлороформ - спирт метиловый - аммиак водный (80:20:1) с последующим проявлением пятен в парах йода в течение 2 часов. Изучение стабильности ЛС по вышеперечисленным показателям качества проводили через каждые 3 месяца в течение первого года хранения и далее каждые 6 месяцев хранения. Хранение осуществляли в температурном режиме от 15 до 25⁰С в защищенном от света месте.

С целью подтверждения возможности использования разработанной нами методики ТСХ для проведения контроля посторонних примесей в ЛС Тимолол, капли глазные 0,25% или 0,5%, нами были проведены «стрессовые испытания». Для «стрессовых испытаний» ЛС (0,5% раствор) после 3,5 лет хранения подвергалось воздействию света в течение 1,5 месяца и кипячению в течение 12 ч.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В состав ЛС в качестве активного вещества входит тимолола малеат, концентрация которого в пересчете на тимолола основание составляет 2,5 мг/мл или 5,0 мг/мл. Водные растворы тимолола малеата имеют кислые значения рН. С целью обеспечения комфорта при применении глазных капель и стабильности ЛС была подобрана буферная система таким образом, чтобы значение рН среды глазных капель находилось в области 7,0. Такое значение рН оптимально для проникновения тимолола через роговицу и проявления оптимального терапевтического эффекта. Для растворов тимолола двух концентраций 0,25% и 0,5% используется одинаковый солевой состав, обеспечивающий значение рН 6,9 и 6,6, соответственно. Предложенный состав вспомогательных веществ обеспечивает гипотоничность раствора, что соответствует требованиям, предъявляемых к глазным каплям гипотензивного действия. Значение осмоляльности для 0,25% и 0,5% растворов тимолола находится в пределах 212 - 228 мОсм/кг. В качестве стабилизатора в состав глазных капель входит динатрия эдетат, в качестве консерванта – бензалкония хлорид. Процесс получения глазных капель тимолола

имеет следующую последовательность технологических операций: вначале готовят водный раствор всех солей, растворяют натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный (9,5 мг/мл), натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный (1,56 мг/мл), натрия хлорид (3,48 мг/мл), затем добавляют динатрия эдетат (0,2 мг/мл), после чего к полученному раствору приливают раствор бензалкония хлорида (0,1 мг/мл) и добавляют расчетное количество субстанции тимолола малеата в зависимости от концентрации приготавливаемого раствора ЛС. Раствор перемешивают до полного растворения компонентов, в асептических условиях фильтруют и разливают во флаконы из нейтрального стекла по 5 мл или по 1 мл в тубик-капельницы.

К настоящему времени завершены исследования по изучению стабильности глазных капель тимолола (0,25% и 0,5% растворы) при хранении в двух видах упаковки при температуре от 15 до 25⁰С в течение 3 лет и 6 месяцев. Изучение ЛС проводилось на трех опытных сериях и показало, что выбранный состав обеспечивает стабильность значения рН глазных капель в течение всего периода наблюдения. На момент приготовления растворов тимоло-

ла 0,25% и 0,5% значение рН было 6,88 и 6,60, к концу периода наблюдения оно составило 6,80 и 6,55, соответственно, растворы оставались бесцветными и прозрачными.

Методика количественного определения тимолола в лекарственном средстве провалидирована. Подтверждена линейность методики количественного определения в диапазоне испытуемых концентраций тимолола (коэффициент корреляции составил 0,999); специфичность (экспериментально было установлено отсутствие поглощения вспомогательных веществ в данной области спектра), воспроизводимость (относительное стандартное отклонение (RSD) составило 0,26%). Количественное содержание тимолола в течение периода наблюдения оставалось в пределах метрологически допустимой ошибки методики определения при хранении во флаконах и тубик-капельницах, что доказывает исключительную стабильность предложенного состава лекарственной формы. Результаты определения количественного содержания тимолола в лекарственном средстве на момент выпуска и на срок хранения 3,5 года приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты изучения стабильности глазных капель тимолола (0,25 и 0,5% растворы)

Серия	Показатели качества	Срок хранения				
		момент выпуска	0,5 года	1,0 года	2 года и 3 мес	3 года и 5 мес
0,25% раствор в тубик-капельницах	рН	6,88	6,90	6,90	6,90	6,82
	тимолол, г/мл	0,00251	0,00252	0,00251	0,00252	0,00253
	бензалкония хлорид, г/мл	0,000072	0,000070	0,000071	0,000069	0,000065
0,25% раствор во флаконах	рН	6,88	6,91	6,90	6,90	6,85
	тимолол, г/мл	0,00250	0,00249	0,00251	0,00250	0,00251
	бензалкония хлорид, г/мл	0,000089	0,000087	0,000087	0,000083	0,000079
0,5% раствор в тубик-капельницах	рН	6,60	6,65	6,65	6,65	6,55
	тимолол, г/мл	0,0049	0,0051	0,0052	0,0051	0,0052
	бензалкония хлорид, г/мл	0,000082	0,000080	0,000080	0,000076	0,000067
,5% раствор во флаконах	рН	6,60	6,63	6,63	6,63	6,57
	тимолол, г/мл	0,0050	0,0049	0,0050	0,0049	0,0050
	бензалкония хлорид, г/мл	0,000092	0,000090	0,000087	0,000087	0,000080

Спектрофотометрический метод использован также для количественного определения содержания в лекарственном средстве консерванта бензалкония хлорида. Для определения консерванта была апробирована первоначально наиболее часто применяемая методика определения бензалкония хлорида в хлороформном экстракте с последующим добавлением 0,2 % раствора бромфенолового синего и измерением оптической плотности при длине волны 415 нм. Эта методика дает завышенные результаты по содержанию бензалкония хлорида в ЛС тимолола. Экспериментально было установлено, что хлороформные извлечения тимолола малеата с бромфеноловым синим образуют также окрашенные соединения, что влияет на значение оптической плотности и искажает результат определения содержания бензалкония хлорида в лекарственном средстве.

Для определения бензалкония хлорида в ЛС тимолола была предложена и использована методика, основанная на образовании комплекса четвертичной аммонийной группы бензалкония хлорида с пикриновой кислотой в щелочной среде и спектрофотометрическом определении этого комплекса после хлороформной экстракции. Определение количественного содержания бензалкония хлорида в ЛС осуществлялось путем измерения оптической плотности хлороформных извлечений комплексного соединения бензалкония хлорида с пикриновой кислотой при длине волны 363 нм.

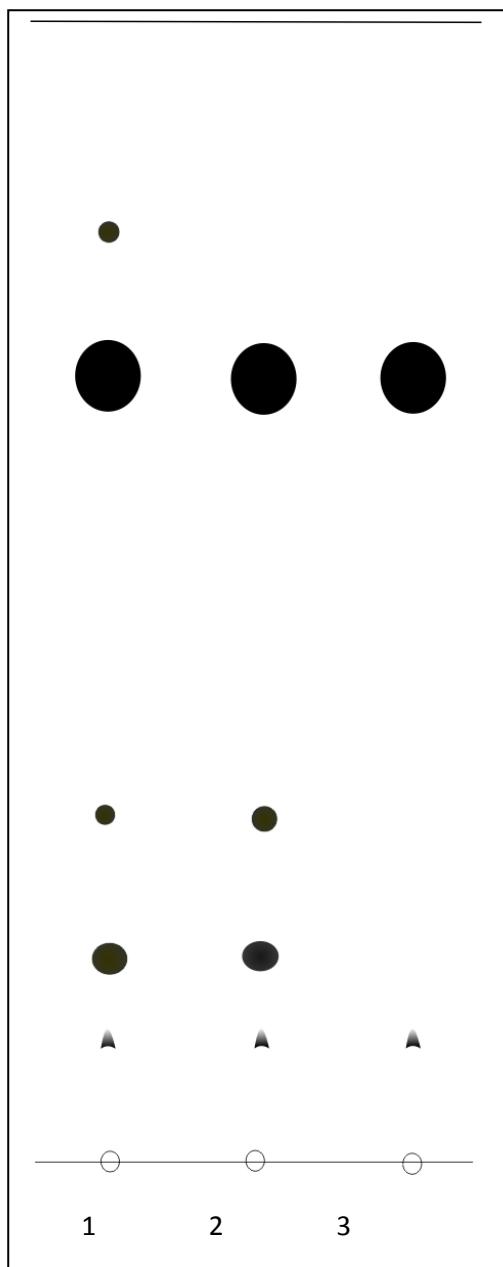
Качество лекарственного средства Тимолол, капли глазные 0,25% или 0,5%, получаемого в соответствии с предложенным составом и разработанной технологией, было подтверждено при изучении стабильности по показателю «Посторонние примеси». Разработанная методика для лекарственного средства позволяет надежно обнаруживать примесь в количестве 0,5%, содержание посторонних примесей в ЛС допускается до 1,0%. На протяжении всего срока изучения ЛС не были обнаружены посторонние примеси в процессе хранения. При проведении стрессовых испытаний на хроматограммах лекарственного средства (рис. 1) были обнаружены продукты разло-

жения тимолола. Данный эксперимент показал, что в лекарственном средстве возможно образование 3-х примесей. Значения R_f продуктов разложения существенно отличаются от R_f основного пятна тимолола (около 0,7). Значения R_f продуктов разложения тимолола при кипячении ЛС были 0,8, 0,3 и 0,18. Значения R_f продуктов разложения тимолола при хранении ЛС на свету составили 0,3 и 0,18. Разработанная методика количественного определения примесей позволяет четко разделять и надежно фиксировать продукты разложения тимолола в количестве 0,5%. Значение величины осмоляльности на протяжении периода изучения практически не менялось и находилось в пределах 212 и 228 мОсм/кг для 0,25% и 0,5% растворов тимолола, что соответствует осмоляльности гипотоничного раствора (210-260 мОсм/кг).

К настоящему времени для ЛС Тимолол, капли глазные 0,25% или 0,5%, производства РУП «Белмедпрепараты» подтверждена стабильность и полное соответствие всем требованиям ВФС РБ 0954-06 и изм. №1 и №2 при хранении ЛС в течение 3 лет. Это дает основание после завершения изучения стабильности в течение 3,5 лет производственных серий глазных капель Тимолол, 0,25% или 0,5% растворы, производства РУП «Белмедпрепараты» установить новый срок годности – 3 года.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработан оптимальный состав и технология приготовления глазных капель Тимолол, 0,25% и 0,5% растворы.
2. Для оценки качества ЛС разработаны чувствительные и точные методики анализа количественного содержания тимолола, бензалкония хлорида, посторонних примесей на основе методов спектрофотометрии и ТСХ.
3. Результаты изучения стабильности разработанного ЛС Тимолол, капли глазные 0,25% и 0,5%, во флаконах из нейтрального стекла по 5 мл и в тубик-капельницах по 1 мл в условиях хранения при температуре от 15 до 25°C в защищенном от света месте показали, что лекарственная форма стабильна в течение срока наблюдения 3,5 лет. Ухудшения показателей качества ЛС не наблюдалось.



1 – при кипячении в течение 12 ч,
 2 – при хранении на свету в течение 1,5 мес.,
 3 – при хранении в течение 3,5 лет.

Рис. 1. Схематичные хроматограммы лекарственного средства тимолола, 0,5% раствора

SUMMARY

O.G. Parakhnevich, T.M. Ermolenko,
 T.V. Trukhacheva

DEVELOPMENT OF THE TECHNOLOGY
 AND THE EVALUATION TEST OF TI-
 MOLOL EYE DROPS

Timolol is a nonselective beta-adrenergic antagonist in 0,25% and 0,5% eyedrop solutions for treatment of the glaucoma. In the context of the Import Substitution Programme RUE “Belmedpreparaty” developed the technology of manufacturing of Timolol eye drops 0,25% and 0,5%. It was chosen the uniform optimal composition for two concentrations of timolol – 0,25% и 0,5% solutions. This optimal composition provided the stability of all quality indexes within 3 years.

ЛИТЕРАТУРА

1. Еричев, В.П. Глаукома / В.П. Еричев // Вестн. Офтальмол. – 1992. – №3. – С. 25 – 27.
2. Либман, Е.С. Состояние и динамика слепоты и инвалидности вследствие патологии органа зрения в России / Е.С. Либман, Е.В. Шахова // Тез. докл. VII съезда офтальмол. России. // М., 2000. – т.2. – С. 209 – 214.
3. Нестеров, А.П. Классификация глаукомы / А.П. Нестеров, Е.А. Егоров // Клинич. офтальмология. – 2001. – №2, Т. 2. – С. 35 – 38.
4. Трубилина, М.А., Шевченко М.В. // Казанский мед. журнал. – 2004. – № 4, С. 319 – 321.
5. Рябцева, А.А. Некоторые современные гипотензивные препараты для лечения офтальмогипертензии и глаукомы / А.А. Рябцева, Мохамед Хабибур Рахман Шейх // Русский медицинский журнал. – 2001. – №2., Т.2.
6. Государственная фармакопея Республики Беларусь Т.2 Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья / УП «Центр экспертизы и испытаний в здравоохранении»; под общ.ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: «Типография «Победа», 2008. – 472 с.

Поступила 12.05.2009 г.
