

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
фармацевтичний факультет
кафедра фармацевтичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему «АНАЛІТИЧНИЙ СУПРОВІД ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ
РОЗРОБКИ ОРИГІНАЛЬНОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ПАСТИЛОК З
ЕСТРАДІОЛОМ ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ В УМОВАХ АПТЕКИ»

Виконав: здобувач вищої освіти групи Фм19(4,10д)-01
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація
Руслан ЗАБАВА

Керівник: завідувачка кафедри фармацевтичної хімії,
д.фарм.н., професор Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

Рецензент: завідувачка кафедри медичної хімії,
д.фарм.н., професор Ліна ПЕРЕХОДА

АНОТАЦІЯ

В роботі наводяться результати експериментальних досліджень з попередніх досліджень щодо якості пастил з естрадіолу валератом 0,07, вперше виготовлених *ex tempore* у центрі персоналізованої медицини «Хемотека».

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, загальних висновків, списку використаної літератури, який включає 36 джерел, і додатків. Основний зміст роботи викладений на 46 сторінок машинописного тексту, що містить 3 таблиці, 17 рисунків, 2 схем

Ключові слова: пастили, естрадіолу валеріат, ВЕРХ, кількісний аналіз, ідентифікація, аналітичний супровід.

ANNOTATION

The work presents the results of experimental studies from previous studies on the quality of troches with estradiol valerate 0.07, first produced *ex tempore* at the «Chemoteka» Center for Personalized Medicine.

The qualification work consists of an introduction, three chapters, general conclusions, a list of references, which includes 36 sources, and appendices. The main content of the work is presented on 46 pages of typewritten text containing 3 Table 17 Pictures 2 Scheme

Key words: troches, estradiol valerate, HPLC, quantitative analysis, identification, analytical support.

ЗМІСТ

Вступ.....	5
Розділ 1. Естрадіолу валеріат. Біологічна роль та хімічні властивості (Огляд літератури).....	9
1.1. Структурні особливості естрогенів, їх біологічна роль.....	9
1.2. Сучасні препарати, які містять у своєму складі активну діючу речовину естрадіол.....	13
1.3. Льодяники, пастили (troches), плівки в екстемпоральній практиці, оромукозні засоби з естрогенами.....	15
Розділ 2. Обґрунтування вибору та опис методик для аналітичного супроводу фармацевтичної розробки пастилок з естрадіолу валеріатом.	
2.1 Обґрунтування вибору методик.....	19
2.2 Хімічні методи ідентифікації естрадіолу.....	22
2.2.1 Якісні кольорові реакції ідентифікації естрадіолу.....	22
2.2.2 Інструментальні методи аналізу Естрадіолу.....	24
2.3 Обґрунтування вибору параметрів контролю якості для пастил із естрадіолом валеріатом.....	25
2.4 Методики контролю основної діючої речовини у складі пастил.....	27
2.4.1 Ідентифікація Естрадіолу Валеріату.....	27
2.4.2 Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу....	28
2.4.3 Кількісне визначення естрадіолу.....	28
Розділ 3. Результати експериментальних досліджень та їх обговорення.....	31
3.1 Ідентифікація Естрадіолу Валерату у складі пастил.....	31
3.2 Однорідність маси однодозових препаратів.....	33
3.3 Кількісний вміст естрадіолу.....	35
Висновки.....	39
Список використаних джерел.....	41

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ШКТ – шлунково кишковий тракт

ДФУ – Державна Фармакопея України

USP – United States Pharmacopeia

ІЧ – інфрачервона спектроскопія

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ЗГТ – замісна гормональна терапія

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

ЄФ – Європейська Фармакопея

ЕР – естрагенові рецептори

УФ – ультрафіолетова спектроскопія

ВСТУП

Актуальність роботи. На сьогоднішній час існує дуже велика проблема, як порушення виробітки статевих гормонів у жінок. Це відбувається під час такого стану, як менопауза (клімакс), тому жінкам необхідно приймати препарати на основі Естрогену, які відіграють велику роль у здоров'ї жіночого організму. Нормальна менопауза не є порушенням чи хворобою і не вимагає специфічного лікування, хоча має великий вплив на якість життя і створює жінкам дискомфорт.

Сучасним трендом досягнення терапевтичного ефекту в світі є персоналізований підхід до лікування та профілактики захворювань, що дозволяє врахувати потреби конкретного пацієнта, індивідуальне дозування та підбір найбільш ефективних композицій. Широке залучення до персоналізованої медицини мають госпітальні аптеки та компаундінг-центри, які за вимогами лікарень або за рецептами лікарів виготовляють відповідні індивідуальні ліки. Однією з широко застосовуваних форм у персоналізованій медицині є пастили або троші (troches). Пастили – це тверді одно дозовані препарати, призначенні для розсмоктування з метою одержання місцевої або системної дії. Вони містять одну або більше діючих речовин зазвичай в ароматизованій і підсолодженій основі та призначенні для повільного розчинення або розпадання у роті під час розсмоктування. Дана лікарська форма має переваги над іншими лікарськими формами у тому, що вона всмоктується у ротовій порожнині, що дозволяє дуже швидко отримати фармацевтичний ефект [1]. Ще одна перевага – відсутність втрат внаслідок першого проходження крізь печінку. Діючі речовини не взаємодіють із ферментами шлунку, оболонка не несе загрози для слизової ШКТ [2].

Індивідуальне виготовлення лікарських засобів за законодавством України (як і в інших країнах) не передбачає повний контроль якості виготовлених лікарських засобів. Але відповідно до вимог ДФУ (гармонізовані з USP) при серійному виготовленні необхідно довести

адекватність обраної технології, що забезпечує якість готової лікарської форми.

Хемотека – одна з перших в Україні аптек, що взяла курс на широке впровадження персоналізованої медицини з урахуванням світових тенденцій і фармакопейних вимог. Враховуючи запит лікарів, було прийнято рішення про впровадження розробки льодяників/пастил, що містять гормональні речовини у різних дозуваннях. Для таких лікарських форм у Хемотеці на першому етапі проводиться оцінка якості одержаного продукту. Дана робота містить експериментальні дані щодо визначення деяких показників якості пастил, що містять естрадіол у дозуванні 0,07г. Основу для трошів розроблено науковцями відділу розробки з використанням доступної інформації.

Мета дослідження. Встановити якість пастил, які містять у своєму складі естрадіолу валеріату у дозуванні 0,07 г, вперше виготовлених *ex tempore* у центрі персоналізованої фармації «Хемтека» на відповідність вимогам ДФУ, як елемент валідації технологічного процесу.

Завдання дослідження. Для досягнення визначеної мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Провести аналіз літературних та інтернет джерел і узагальнити данні наукової літератури щодо естрадіолу валеріату, його фармакологічних, хімічних, фізичних властивостей, основних шляхів метаболізму, методів контролю якості основної діючої речовини у складі пастил.
2. Розробити і теоретично обґрунтувати методики ідентифікації та кількісного визначення естрадіолу валеріату у складі пастил, які були розроблені у центрі персоналізованої фармації «Хемтека».
3. Встановити, згідно вимог ДФУ, однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу, для екстемпоральних пастил, які були вперше виготовлені в екстемпоральній аптеці.

4. Систематизувати отримані результати, які були отримані в ході експерименту та розробити план подальших дій наукової розробки оригінального препарату.

Об'єкт дослідження. Контроль якості лікарських засобів, виготовлених в аптеках.

Предмет дослідження. Теоретичне обґрунтування використання та апробація методик контролю якості діючої речовини естрадіолу валеріату, що входить до складу пастил.

Методи дослідження. Відповідно до вимог фармакопеї для контролю якості серійного виготовлення пастил мають бути встановлені такі показники: вага, питома вага, кількісне визначення активної речовини, однорідність дозованих мас, текстура-поверхня, зовнішній вигляд, відчуття, тест «Розчинення».

- Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу. Випробування проводилися відповідно до вимог монографії ДФУ 2.9.5 Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу.
- Ідентифікація діючої речовини, проводилася за допомогою якісних реакцій, а також за допомогою ВЕРХ, порівнювали хроматограми випробуваного розчину із розчином стандартного зразку.
- Кількісне визначення естрадіолу валерату. Випробування проводили з різними концентраціями естрадіолу валерату за допомогою ВЕРХ, з використанням стандартних зразків estradiol valerate CRS.

Практичне значення отриманих результатів. Запропоновані методики аналізу активної діючої речовини можуть бути використані для аналізу багатокомпонентних препаратів, що містять у своєму складі естрадіолу валерат.

Апробація результатів дослідження і публікації. Результати роботи були представлені у вигляді тез та доповіді на: I етапу Всеукраїнського конкурсу студентських наукових робіт Національному фармацевтичному університеті, який проходив 13 березня 2023р, XXX Міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів «Актуальні питання створення

нових лікарських засобів», та XXIX International Scientific and Practical Conference of young scientists and students «Topical issues of new medicines development», які проходили 19 квітня 2024р.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаної літератури, який включає 36 джерел. Основний зміст роботи викладений на 46 сторінках машинописного тексту, що містить 2 схему, 17 рисунки, 3 таблиці.

Розділ 1

ЕСТРАДІОЛУ ВАЛЕРАТ. БІОЛОГІЧНА РОЛЬ ТА ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ (Огляд літератури)

1.1. Структурні особливості естрогенів, їх біологічна роль

Характерною структурною особливістю естрогенів, яка відрізняє їх від решти стероїдних гормонів, є ароматичне кільце А. В положенні 3 обов'язково присутній фенольний гідроксил. Так само як і феноболін, естрогени не мають метильної групи в положенні 10. У Положенні 17 обов'язково має бути киснева функція – кетогрупа (естрон) Рис 1.1

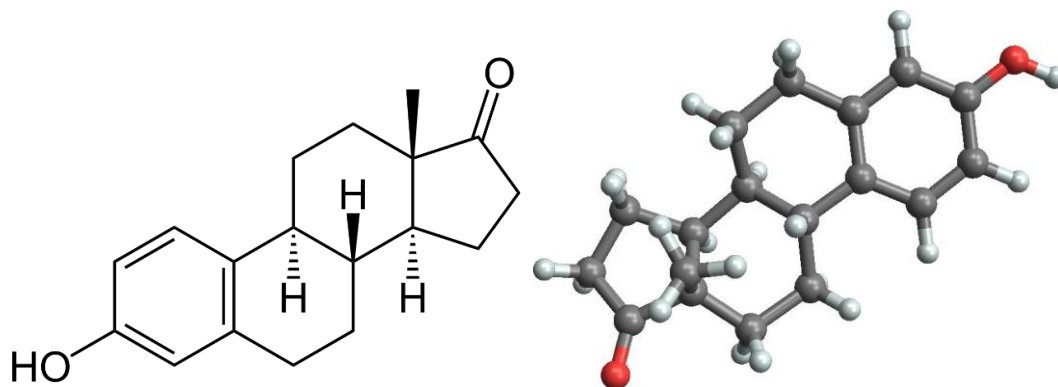


Рис 1.1 Структурна формула Естрогенів

Також у положенні 17 обов'язково замість кетогрупи може бути присутня гідроксильна група – Естрадіол.

Естрадіол (2) - це естрогенний стероїдний гормон, що виробляється в яєчниках. Має приблизно вдвічі вищу активність в порівнянні із іншими естрогенними гормонами.

Естери естрадіолу (рис. 1.2) (бензоат, валеріат, дипропіонат) повільно всмоктуються, повільно виділяються і проявляють тривалий вплив на організм, не руйнуються в ШКТ і тому є ефективними при пероральному застосуванні.

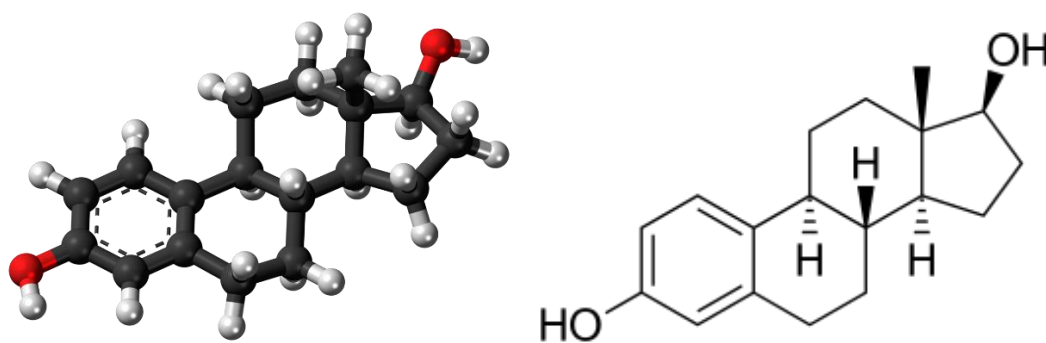


Рис 1.2 Структурна формула Естрадіолу

Естрадіол відіграє важливу роль у правильному формуванні та функціонуванні статеві системи. Цей гормон заповнює дефіцит естрогенів у період менопаузи, забезпечуючи лікування клімактеричних розладів: припливів, гіпергідрозу, емоційної лабільності, тахікардії, кардіалгії, нетримання сечі внаслідок ослаблення сфінктера сечового міхура. Знімає болючість статевих зносин внаслідок сухості слизової оболонки піхви, запобігає інволюції шкіри за рахунок посилення утворення колагенових волокон. При регулярному застосуванні знижуються рівні загального холестерину, ліпопротеїдів низької щільності, підвищується вміст тригліцеридів та ліпопротеїдів високої щільності, що запобігає розвитку та прогресуванню атеросклерозу. Естрадіол пригнічує активність остеокластів, запобігаючи розвитку постменопаузального остеопорозу [3].

Оральні препарати естрогену та естрадіолу включають естропірат (піперазину естрогену сульфат), естрадіолу валерат і ацетат, а також мікронізований естрадіол. Всі оральні естрогени призводять до більш високих рівнів естрогену в крові, ніж естрадіол, через те, що естрадіол піддається окисленню слизовою оболонкою кишечника та 17β -HSD печінки під час першого проходження через печінку. Естрадіол та естроген краще всмоктуються у кон'югованій або мікронізованій формі. Прийом 1,2 мг естропірату, 1 мг мікронізованого естрадіолу та 0,625 мг комбінованого естрадіолу/естрогену призводить до подібних максимальних рівнів естрадіолу та естрогену в крові від

30 до 50 пг/мл та від 150 до 300 пг/мл відповідно протягом 4-6 годин. Прийом 1,5 мг естропіату та 2 мг естрадіолу валерату призводить до майже однакових рівнів естрадіолу та естрону сульфату і трохи вищих значень естрону для естрадіолу валерату. Максимальні рівні 300 пг/мл для естрону та 65 пг/мл для естрадіолу досягаються після прийому 2 мг мікронізованого естрадіолу. Фармакокінетичні дослідження естропіату та естрадіолу валерату вказують на схожі характеристики періоду напіввиведення. При тривалому застосуванні 2 мг мікронізованого естрадіолу спостерігається рівень естрадіолу 114 ± 65 пг/мл та естрону 575 ± 280 пг/мл. Рівні естрадіолу та естрону після 4 тижнів прийому 2,5 мг естропіату на добу становлять 126 пг/мл та 356 пг/мл відповідно. Рівні в крові, досягнуті після тривалого впливу оральних естрогенів, трохи вищі, що може бути наслідком підвищення рівня SHBG та секвестрації естрогенів у жировій тканині. Також естрадіол валеріат використовують для лікування раку передміхурової залози у чоловіків. Побічні дії від використання естрадіолу включають у себе такі явища, як підвищену чутливість молочних залоз, нудоту, головну біль.

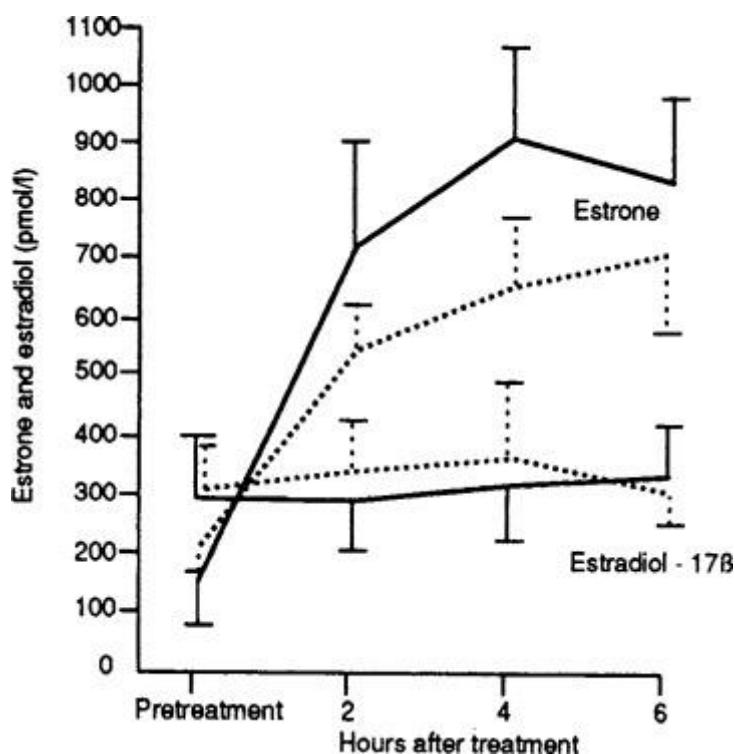


Рис 1.3 Порівняння активності естрону та естрадіолу

Естрадіол валеріат (рис. 1.4) є синтетичним естрогеном, агоністом естрагенових рецепторів, біологічною мішенню естрогенів, такі як естрадіол. Естрадіол валеріат являється ефірним естрогеном та проліками, таким чином вважається природною та біоідентичною формою естрогену.

Він був вперше використаний в медицині у 1954 році, і на теперішній час використовується, як дженерік.

За хімічною структурою належить до стероїдних гормонів (1). Також він відомий як 17 β -естрадіол. Має в свої структурі 2 гідроксильні групи, одна з яких є фенольним гідроксилем. Часто використовується естрадіолу валерат (2). Крім останнього в Європейській фармакопеї [4] наведено монографії на естрадіолу бензоат та естрадіолу гемігідрат.

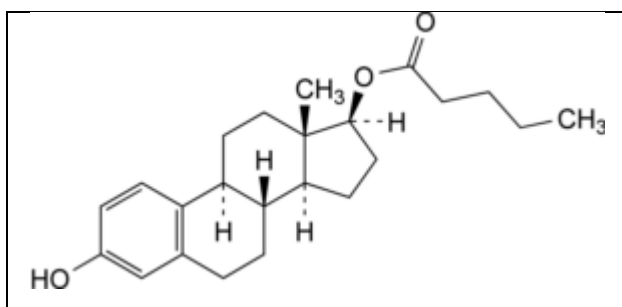


Рис 1.4 Естрадіол валеріат

За даними ЄФ всі препарати естрадіолу являють собою білі або майже білі кристалічні порошки або безбарвні кристали. Практично не розчинні у воді, розчинні у метиленхлориді (гемігідрат та бензоат – слабо, валерат-легко), розчинні у 96% етанолі (гемігідрат – повільно). Для естрадіолу бензоату характерне явище поліморфізму. [4]

За вимогами ЄФ ідентифікація всіх субстанцій естрадіолу здійснюється методами ІЧ-спектроскопії. Естрадіолу валерат рекомендують також ідентифікувати методом ВЕРХ (за хроматограмою, одержаною під час кількісного визначення. Для ідентифікації естрадіолу гемігідрату Друга ідентифікація передбачає такі випробування: температура плавлення, ТШХ у порівнянні зі стандартним зразком після обробки спиртовим розчином

сірчаної кислоти, хімічна реакція з сульфомолібденовим реактивом – утворюється синє забарвлення з зеленою флуоресценцією, після додавання сірчаної кислоти – рожеве забарвлення з жовтуватою флуоресценцією.

Оскільки розробка планується з естрадіолу валератом, наша основна увага при аналізі фармакопейних вимог була приділена саме цьому АФІ. Як тести ЄФ вимагає проведення випробування на прозорість розчину, питоме оптичне обертання ($+ 41 - + 47$ в перерахунку на суху речовину), втрата в масі при висушуванні та визначення супутніх речовин (ВЕРХ). В умовах визначення останніх здійснюється і кількісне визначення. У Фармакопеї США (НФ 43) [5] вимоги є подібними. Обидва документи рекомендують зберігати естрадіолу валерат у захищеному від світла місці. Вченими [6] досліджено вплив на стабільність і фотодеградацію естрадіолу під дією УФ-світла, також досліджували вплив на стабільність водної системи УФ-перекис водню [7]. Також Національний формуляр містить монографію на лікарську форму – масляний розчин естрадіолу валерату для інєкцій. [5]. В ДФУ монографії на субстанції естрадіолу не представлені.

1.2 Сучасні препарати, які місять у своєму складі активну діючу речовину естрадіол

На сьогоднішній час на ринку України існують багато різних оригінальних та генеричних лікарських препаратів, які місять с своєму складі естрадіол, як активну діючу речовину. Для лікування станів порушення вироблення статевих гормонів використовують такі лікарські форми: таблетки (монокомпонентні та комбінована терапія), гелі, трансдермальні пластирі. Основні препарати, які використовують на ринку України представлені в таблиці 1.1

Таблиця 1.1

Сучасні препарати з естрадіолом

Торгова назва препарату, Виробник	Склад активних діючих речовин
Клайра, т. в/плів обол. Байер Ваймар ГмбХ і Ко. КГ.	Естрадіол валеріат Дієногест
Фемостон конті, т. в/плів обол. Абботт Біолоджікалз Б.В./ Abbott Biologicals B.V.	Естрадіолу гемігідрат мікронізований Дидрогестерон мікронізований
Прогінова, таблетки в/о Дельфарм Лілль САС Дивігель, гель 0.1 % Оріон Корпорейшн/ Orion Corporation.	Естрадіол валеріат Естрадіолу гемігідрат
Анжелік, табл. в/о Байер Ваймар ГмбХ і Ко. КГ	Естрадіолу гемігідрат Дроспіредон
Лензетто спрей трансд. р-н 1.53 мг/дозу, Гедеон Ріхтер	Естрадіол гемігідрат
Клімонорм таб. в/об Дельфарм Лілль САС.	Естрадіол валеріат Левоноргестрел
Естрамон пласт. трансдермальний Гексал АГ. Сандоз	Естрадіол
Естрожель гель Безен Меньюфекчурінг Белджіум.	Естрадіол гемігідрат
Клімен табл., в/о ДЕЛЬФАРМ ЛІЛЛЬ САС	Естрадіолу валеріат Ципротеренон ацетат

Провівши статистичний аналіз даних переліку реєстру лікарських засобів зареєстрованих на території України, ми можемо стверджувати, що на потенційному ринку продажу не має аналогів естрадіолу у формі пастил та льодяників.

Так як препарат, який був розроблений центром персоналізованої фармації «Хемотека» випускається у формі пастил, він покращує зручність приймання, дозування і всмоктуваність даної лікарської речовини. Це дозволяє створити конкурентоспроможність даної лікарської форми, якщо вводити її на ринок продажу в Україні.

За статистичними даними жінки від 17 до 24, а також від 45 до 55 років приймають дану лікарську речовину у вигляді таблеток у дозуванні 0.25 – 0.75 мг, що не є зручним у використанні та якості всмоктування препарату, так як цей гормон треба приймати бажано в один і той же час з 8:00 по 12:00 годину, на 3 – 5 день циклу, при порушенні менструального циклу, тазових болях, аномальних вагінальних кровотечах, а також при симптомах клімактеричного порушення. Період напіввиведення займає 8 - 11 годин з моменту прийому, і тому дія препарату співпадає тільки на денні часи. При прийомі естрадіолу у вигляді пастил у дозуванні 0,7 мг, ми зможемо прогнозувати, що всмоктування лікарської речовини буде проходити вже на етапі ротової порожнини і період напіввиведення лікарської речовини буд складати більше 20 годин так, як доза в 2 рази більше ніж у таблетованій формі. Так як даний препарат буде всмоктуватися з порожнини рота, а не з шлунка, це буде прискорювати всмоктування та метаболізм естрадіолу.

Підводячи підсумки можна стверджувати, що пастили, які розробляються компанією «Хемтека» є новим, оригінальним препаратом для застосування жінкам при порушеннях вироблення статевого гормону естрадіолу, що зробить зручнішим приймання препарату, не буде сприйматися пацієнтами, як «страшні таблетки», а будуть сприйматися, як ефективне та приємне лікування, солодкими та смачними пастилами.

1.3 Льодяники, пастили (troches), плівки в екстемпоральній практиці, оромукозні засоби з естрогенами.

Оромукозні лікарські засоби (лікарські засоби для ротової порожнини) являють собою тверді, м'які або рідкі лікарські засоби, що містять одну або більше діючих речовин; призначені для застосування в порожнині рота і/або горла для отримання місцевої або системної дії.

Відповідно до визначення USP Compounding «льодяники — це тверді пероральні лікарські форми, призначені для повільного розчинення або розпаду в роті. Вони містять одну або кілька лікарських речовин, які повільно вивільняються з, як правило, ароматизованої та підсолодженої основи... Формовані льодяники називаються краплями від кашлю або пастилками, але ці терміни не використовуються в офіційних назвах статей. Пастилки, виготовлені шляхом пресування, штампування чи вирізання з однорідного шару пасти, іноді називають пастилами (термін не використовується в офіційних назвах статей)» [19]. Зазвичай для їх виготовлення компаундінг центри використовують готові основи. Допоміжні речовини, що використовуються для виробництва формованих пастилок, включають желатин, плавлену сахарозу, сорбіт або іншу вуглеводну основу. На ринку США представлений широкий вибір готових основ для виробництва трошів.

Останнім часом троші набувають дуже широкого розповсюдження як інструмент персоналізованої медицини. Вони дозволяють індивідуально дозувати лікарські речовини, створювати їх комбінації, є високобідоступними та не піддаються дії ферментів [20, 24]. Переваги трошів сьогодні широко рекламуються на сайтах всіх компаундінг центрів та мереж виробничих аптек.

Льодяники сьогодні є однією з найбільш популярних форм для дітей («child-friendly»). Лікувальні льодяники та пастилки стали сьогодні альтернативою пероральним розчинам [21, 22]. Введення цих лікарських форм полегшується, оскільки вони повільно розчиняються у роті або їх можна легко розжувати та проковтнути. М'які та жувальні таблетки для розсмоктування можуть мати оригінальну форму (наприклад, клейкі ведмедики), що робить їх ще більш привабливими. Ці нетрадиційні, але багатообіцяючі лікарські форми

У роботі [25] представлено розробку мукоадгезивної плівки естрадіолу для замісної гормональної терапії з використанням плівкоутворюючих полімерів. Два підходи, а саме, співрозчинність і наноемульсія, були оцінені для збільшення розчинності. Плівки охарактеризовані за механічними та фізико-хімічними властивостями. Дослідження вивільнення *in vitro* показало, що приблизно 80% препарату вивільнялося протягом 6 хвилин із плівок, виготовлених за допомогою наноемульсійного підходу, тоді як для отримання аналогічного вивільнення препарату з плівок, виготовлених за допомогою підходу спільної розчинності, знадобилося приблизно 10,5 хвилин для трансбукальних форм естрадіолу досліджено фармакокінетичні параметри [31].

У 2014 році описано виготовлення та контроль якості комбінованих трошів естрадіолу та естрону [26]. Для виготовлення як основа використовували порошок стевії, мікронізований сілікагель, барвник та пропіленгліколь, або готову основу для трошів. Контроль якості для серійно виготовлених трошів здійснювали за стандартною операційною процедурою для оцінки якості супозиторіїв, трошів та льодяників [27].

Незважаючи на ефективну терапію симптомів менопаузи, застосування перорального естрогену пов'язане з низькою біодоступністю та серйозними побічними ефектами венозної тромбоемболії. Індивідуалізована терапія рекомендована для максимізації переваг і запобігання несприятливих ефектів, але розробки рецептур вимагає гнучкості для персоналізації терапії. Автори [30] застосували інноваційну технологію 3D-друку, щоб спроектувати та розробити двошарову плівку естрадіолу з різними візерунками заповнення з метою покращення біодоступності та полегшення індивідуального лікування.

Висновок до розділу 1

Аналіз літературних та інтернет джерел показав, що сучасна терапія менопаузи у жінок повинна бути якісною та доступною, а вивчення ринку України показала, що подібна розробка є оригінальною та не має аналогів, завдяки своїм перевагам буде широко використовуватися серед пацієнтів, які

потребують гормонотерапію, тому було вирішено розробити сучасний екстемпоральний засіб на основі естрадіолу валеріату у вигляді пастил для розчинення у порожнині рота.

Розділ 2

Обґрунтування вибору та опис методик для аналітичного супроводу фармацевтичної розробки пастилок з естрадіолу валератом

2.1 Обґрунтування вибору методик

В сучасній науковій літературі представлена велика кількість інформація щодо розроблення нових або удосконалення існуючих методик визначення естрадіолу. Слід зазначити, що останнім часом вчені стали повертатись до спектральних методів дослідження як більш «зелених» та економічних.

Так, вченими [8] були досліджені різні розчинники для виконання спектрофотометричного визначення естрадіолу. В результаті експериментальних досліджень найбільша чутливість та прийнятність була одержана при застосуванні як розчинника метанола. Максимум поглинання при цьому спостерігався при 281 нм (рис.2.1, наведено зі статті). Порівняння результатів валідації цієї методики з хроматографічної показало, що обидві є коректними для визначення естрадіолу в лікарських формах [8]

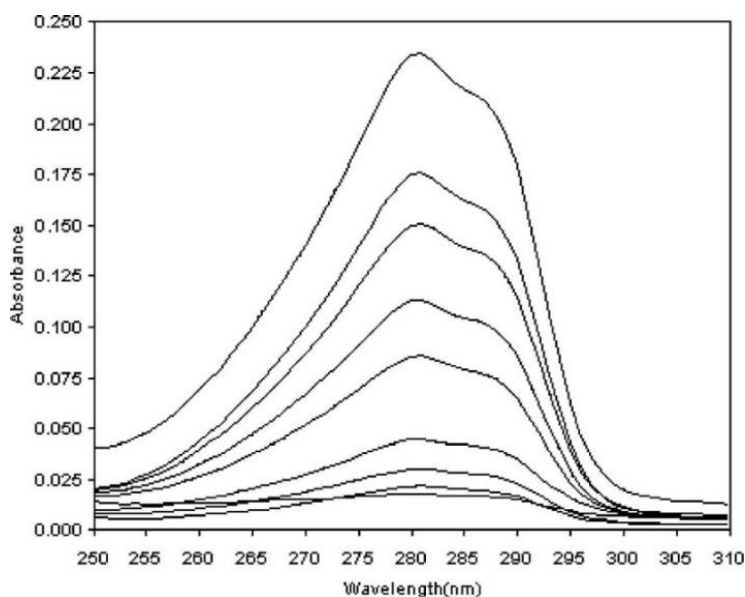


Рис. 2.1 УФ-спектр 17-β-естрадіолу в концентраціях 0,5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10 та 12 мкг\мл) [8].

Запропоновано використання УФ-спектрофотометрії у дериватизаційному варіанті [9, 10]. Для дослідження використовувалась перша похідна спектру за довжини хвилі 270 нм.

Для визначення естрадіолу в лікарських формах та сечі запропоновано метод адсорбційної інверсійної вольтамперометрії. При цьому застосовані висячий ртутний краплинний електрод (HMDE), вугільні електроди з трафаретним друком (SPCE) і електроди з вуглецевих нанотрубок із трафаретним друком (SPCNTE). Встановлено співставність результатів, одержаних в експерименті з різними електродами [17].

Звичайно, найчастіше на сьогодні проводяться дослідження з можливостей та варіантів застосування хроматографічних методів.

Болгарськими вченими запропоновано економічне та надійне визначення естрадіолу гемігідрату у твердих лікарських формах зі застосуванням ТШХ- денситометрії. Умови визначення були такі: скляні пластинки Silicagel G₆₀F₂₅₄, мобільна фаза; хлороформ-ацетон 90:10, Фронт – 120 мм, детекція – УФ-світло за довжини хвилі 254 нм [11].

Використання методу обернено-фазової ВЕРХ з УФ-детекцією, що дозволяє надійно розділити стероїди, запропоновано для виявлення фальсифікованих лікарських засобів, в тому числі, естрадіолу валерат [12]. Розроблено та валідовано методи обернено-фазової ВЕРХ, що дозволяють визначати естрадіолу валерат *in bulk* та в лікарських формах [13, 14] Завдяки своїй простоті та точності, автори вважають, що метод може бути використаний для рутинного аналізу контролю якості. Метод ВЕРХ з оберненою фазою був розроблений з використанням колонки μ Bondapak Phenyl 5 мкм (3,9 мм x 30 мм) і рухомої фази ацетонітрил: вода у співвідношенні 80:20 об'єм/об'єм зі швидкістю потоку 0,8 мл/хв з УФ-детектором. при 220 нм для естрадіолу валерату. Час утримання препарату становив 2,262 хвилини. Розроблений метод був валідований на специфічність, лінійність, прецизійність, точність і надійність згідно з

рекомендаціями ІСН. Лінійність була підтверджена в діапазоні 0,04-0,12 мг/мл [14].

Хроматографічні методи застосовують і для контролю відмивки при виробництві лікарських засобів. Метод ВЕРХ розроблений для одночасного визначення залишків на виробничому обладнанні 7 АФІ стероїдів – дієногесту, фіностериду, естрадіолу та інших. Представлений метод валідовано для процесу очистки. Швидкість і зручність цього методу доведена в процесі експерименту [15]. Залишкові кількості стероїдів у стічних водах автори [16] рекомендують визначати методом тандемної хромато-мас-спектрометрії.

Розробку методу для оцінки чистоти 17 β -естрадіолу здійснено у відповідності з методом масового балансу. Домішки розділили на 4 класи – супутні речовини подібної структури, вода, нелеткі неорганічні домішки та залишкові розчинники. Супутні речовини характеризували з використанням GC-FID та HPLC/UV, вміст води визначали за Фішером, нелеткі неорганічні домішки та залишкові розчинники визначали разом з використанням ТГА. Метод був валідований залученням незалежних аналітиків різних організацій з різних країн. Таким чином було доведено його відтворюваність [18].

Естрадіолу 17 β валерат (E2V) - це гормональний препарат, який широко використовується в гормональній замісній терапії. E2V зазнає оборотного ізосиметричного структурного фазового переходу при низькій температурі (≈ 250 K), який є результатом переорієнтації валератного ланцюга. Оборотний ізосиметричний структурний фазовий перехід відповідає класифікації Еренфеста, коли описується як перший порядок, і класифікації Бюргера, коли класифікується як порядок-невпорядкованість. Конформаційна різниця також спричиняє зміни в кутах кручення молекул і в структурі водневих зв'язків. У поєднанні з розрахунками теорії функціоналу густини (DFT), коливальна спектроскопія була використана для кореляції мод валератного ланцюга зі змінами двогранних кутів при фазовому переході. Ми очікуємо поліпшення нашого розуміння механізму фазового переходу, зумовленого температурою. Конформаційний аналіз виявив можливі структури, що відповідають змінам

двогранних кутів, пов'язаних з валератним ланцюгом. ІЧ-спектри розрахованих конформерів добре узгоджуються з експериментальними спектрами структури E2V, записаними при кімнатній температурі, показуючи, що зміни в модах валератного ланцюга при 1115 см⁻¹, 1200 см⁻¹ і 1415 см⁻¹ є відбитком молекулярної конформації. Дослідження ліганд-білкової взаємодії E2V через докінг з естрогеновим рецептором (ER) виявило інгібіторну та агоністичну природу E2V.

2.2 Хімічні методи ідентифікації естрадіолу

2.2.1 Якісні кольорові реакції ідентифікації естрадіолу

Хімічні методи аналізу естрадіолів мають різні види реакцій, які включають у себе кольорові реакції, ТШХ, ІЧ – спектроскопію, УФ-спектроскопію. Існує загальна реакція на естрадіол, яка підтверджує наявність стероїдного циклу у структурі молекули. Ця реакція проходить із додаванням до естрадіолу H₂SO₄ конц.. Так етинілестрадіол дає оранжево-червоне забарвлення з жовто-зеленою флуоресценцією, местранол кроваво-червоне забарвлення, за такою самою флуоресценцією.

Естрадіол діпропіонат під впливом H₂SO₄ конц гідролізується з утворенням пропіонової кислоти, подальше нагрівання із етанолом веде к утворенню етилового ефіру пропіонової кислоти, який має специфічний запах. (Рис 2.2).

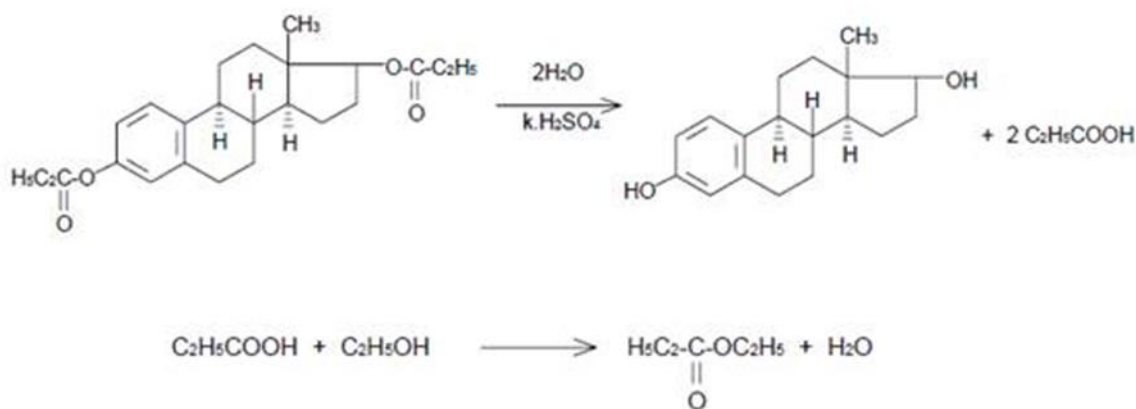


Рис 2.2 Ідентифікація стероїдного циклу

В ароматичному циклі А, стероїдного циклу естрадіолу, має у своєму складі фенольний гідроксил, який можна ідентифікувати за такими реакціями:

А) Електрофільного заміщення (бромовання, нітрування, утворення азобарвника, ауринового барвника). Наприклад, азобарвник, який утворюється при взаємодії фенола із сіллю діазонія в лужному середовищі, утворює розчин темно-червоного кольору. Данна реакція використовується для кількісного визначення етинілестрадіолу у таблетках (Рис 2.3)

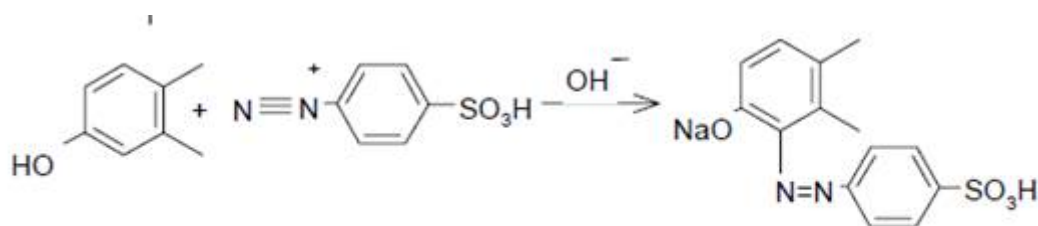


Рис 2.3 Реакція визначення фенольного радикалу у стероїдному циклі.

Б) З реактивом Маркі – утворюється ауриновий барвник малинового або фіолетового кольору.

В) Реакції взаємодії із солями металів, наприклад FeCl_3

Г) Утворення складних ефірів, наприклад с бензоїлхлоридом, який має характерну температуру плавлення. (Рис 2.4)

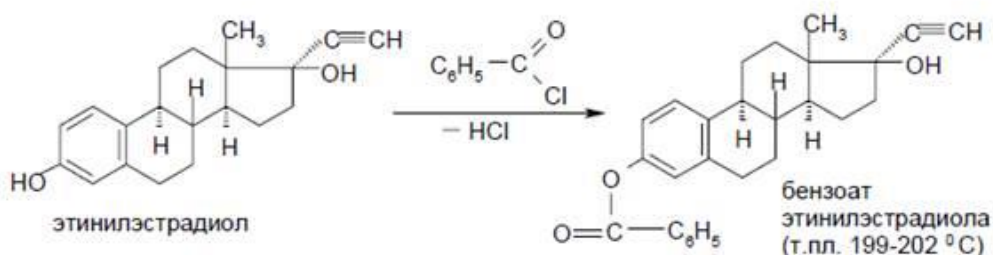


Рис 2.4 Утворення складних ефірів естрадіолу

Д) Естрадіол дипропіонат ідентифікують по утворенню естрадіола після лужного гідролізу та очистки його від домішок.

2.2.2 Інструментальні методи аналізу Естрадіолу

Для естрадіолу валеріату існують різні види хімічної ідентифікацій, які включають у себе використання інструментальних методів аналізу, таких, як УФ – спектроскопія, ІЧ – спектроскопія, ВЕРХ.

Похідна спектрофотометрія – це аналітичний метод, який дозволяє якісно і кількісно досліджувати субстанції. Досліджувану субстанцію і стандартний фармакопейний зразок потрібно розчинити в метанолі та обробляти ультразвуком протягом 15 хв.

Для аналізу використовують кварцеві кювети з товщиною 10мм, швидкість сканування складає 600 нм хв⁻¹, діапазон сканування 250 – 310 нм. Естрадіол валеріат дає 2 характерні максимуми при 280 та 289 нм. (Рис 2.5) (наведено зі статті)

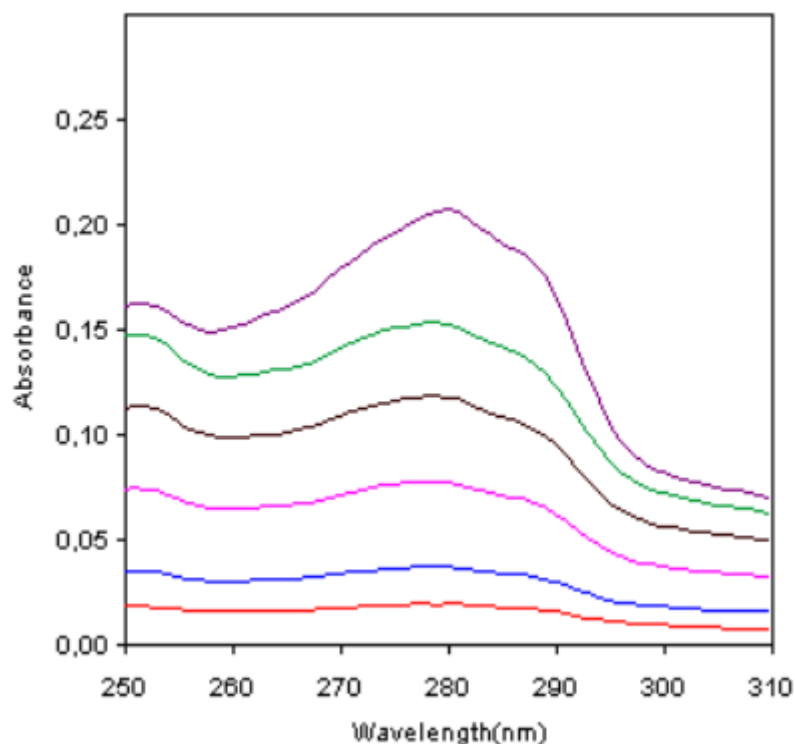


Рис 2.5 Спектр стандартного зразку Естрадіолу Валеріату (наведено зі статті)

Після проведення дослідження порівнюють спектри стандартного зразку Естрадіолу валеріату із досліджуваною субстанцією. Якщо максимуми на спектрі досліджуваного зразку співпадають із максимумами спектру розчину порівняння, то можна стверджувати про наявність Естрадіолу валеріату у досліджуваній субстанції.

2.3 Обґрунтування вибору параметрів контролю якості для пастил із естрадіолу валератом

Компанією «Хемотека» був розроблений препарат у формі пастил, який містить активний фармацевтичний інгредієнт Естрадіолу валерат 0,07 (рис 2.6).

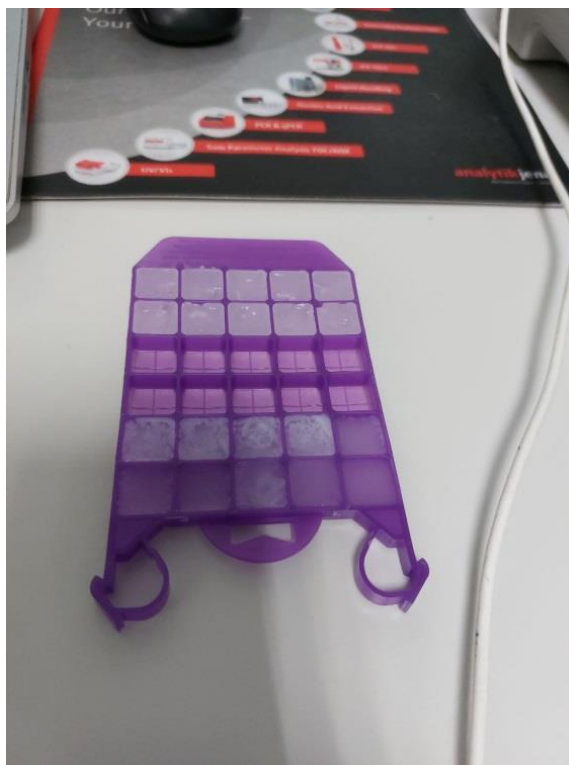


Рис. 2.6 Пастили із естрадіолом

Даний препарат зручний до застосування, має приємний підсолоджений смак на основі Стевії лікарської, що дозволяє застосовувати його людям, які хворіють на цукровий діабет, тому що вона не підіймає рівень глюкози в крові.

Призначається як правило 1 раз на добу завдяки підібраній концентрації Естрадіолу валерату 0,07 відповідно, впродовж 28 діб для отримання бажаного фармакологічного ефекту. Серед прописів також зустрічались рекомендації лікарів щодо виготовлення індивідуальних пастил з дозуванням естрадіолу валерату 0.05 г.

Відповідно до вимог USP Compounding для контролю якості серійного виготовлення пастил (трошів) мають бути встановлені використовують такі показники: вага, питома вага, кількісне визначення активної речовини, колір, текстура-поверхня, зовнішній вигляд, відчуття, тест на плавлення, тест «розчинення», фізичне спостереження та фізична стабільність [27]. В умовах центра персоналізованої медицини пастили з естрадіолу валеріатом виготовляються *ex tempore* під наглядом, тому контролюються як всі екстемпоральні засоби шляхом загальноприйнятих видів контролю – письмового, опитувального, при відпуску. При розробці технології

виготовлення брали до уваги доступні в літературі відомості щодо виготовлення трошів з естрадіолом [26] клотримазолом [32]. Для забезпечення якості було прийнято рішення щодо придбання готової основи для трошів виробництва....., а також при виготовленні експериментальної серії з 28 пастил та встановлення для них деяких показників якості. Виготовлені пастили оцінювали за такими показниками: зовнішній вигляд, ідентифікацію діючої речовини, однорідність маси однодозових препаратів, однорідність вмісту однодозових препаратів, кількісний вміст. Оцінку здійснювали у відповідності до вимог ДФУ [35, 36].

2.4 Методики контролю основної діючої речовини у складі пастил

2.4.1 Ідентифікація Естрадіолу Валеріату

А. Ідентифікація стероїдного циклу

Точну наважку естрадіолу валеріату розчиняють у концентрованій сульфатній кислоті, повинно з'являтися оранжево-червоне забарвлення, з жовто-зеленою флуоресценцією у відбитому світлі. (рис 2.3)

При додаванні розчину феруму (III) амонію сульфату і води розчин темніє і випадає червонувато-коричневий осад.

В. Рідинна хроматографія 2.2.27 [35]

Ідентифікація Естрадіолу Валеріату проводилась згідно вимог монографії.

Розчин А приготований, як зазначено у методі кількісного визначення естрадіолу.

Розчин В, 2.0 мл розчину А довести до 10.0 мл тим самим розчинником, що використовувався при приготуванні розчину А

Розчин порівняння С. Розчин використовується, який зазначено в методі «Кількісне визначення» естрадіолу валеріату.

Хроматографування проводили, як зазначено в ЄФ, монографії на Естрадіол валеріат. Умови хроматографування зазначені в методі «кількісного визначення».

Випробування вважається достовірним, якщо пік та час утримання на хроматограммі розчину порівняння співпадає із випробуваним розчином.

2.4.2 Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу

Випробовування проводилось відповідно вимог монографії ДФУ 2.9.5. Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу. Для визначення однорідності маси проводять спеціальний ваговий аналіз, під час якого вимірюється кожна одиниця дозованого засобу і порівнюються результати. Якщо маси випробуваного дозованого засобу мають близькі один до одного результати, то це підтверджує однорідність маси однодозованих препаратів. Для цього у відповідності до вимог цієї монографії довільно відбирали 20 одиниць виготовлених таблеток, зважували кожен окремо, розраховували середню масу а також відхилення маси кожної таблетки від середньої маси [36].

2.4.3 Кількісне визначення естрадіолу [4]

Рідинна хроматографія 2.2.27 [35]

Приготування розчину А. точно зважену наважку 1 таблетки розчинити в ацетонітрилі R1 та додати той самий розчинник до 100,0 мл.

Приготування розчину В. Розбавити 2,0 мл розчину А в 10,0 мл ацетонітрилу R1.

Розчин порівняння С. Розчинити 14 мг estradiol valerate CRS в ацетонітрилі R1 і розбавити до 100,0 мл тим самим розчинником.

Колонка: Kinetex 2,6 мкм Polar C 18 100 А

- Розмір 100x4.6 mm

Рухома фаза:

- Рухома фаза А: Вода R
- Рухома фаза В: Ацетонітрил R1

Хроматографування проводили в градієнтному режимі, зазначеному у монографії ЄФ Естрадіолу валерат:

Час	Рухома фаза А	Рухома фаза В
0-1	48	52
1-10	48-35	52-65
10-17.5	35-0	65-100
17.5-26	0	100

Швидкість ін'єкції: 2мЛ/хв.

Детектор: Спектрофотометричний, при довжині хвилі 220 нм.

Вміст естрадіолу валерату обчислювали за формулою:

$$x = \frac{St \times mst \times V_{mk} \times Pst \times B}{mt \times Sst \times V_{п}}$$

де St – середня площа піка естрадіолу на хроматограмі випробовуваного розчину,

mst – наважка стандартного зразка естрадіолу,

B – середня маса таблеток,

Pst – чистота стандартного зразка,

Sst – середня площа відповідного піка на хроматограмі розчину порівняння.

mt – наважка зразка таблетки

При виконанні даного дослідження застосовували таке обладнання: UPLC Agilent 1290, ваги лабораторні електронні RAD WAG AS 200/C, ультразвукова баня Sonorex Digitec DT100H., рН метр И-160МИ, мірний посуд класу А. Для обробки хроматограм використовували програмний пакет Lab Solutions version 5.97.

При виконанні дослідження використовували фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) естрадіолу валерату ("Sigma-Aldrich", $\geq 99\%$, HPLC), розчинники для хроматографії.

Висновок до розділу 2

Був проведений огляд методик контролю якості естрадіолу. Підібрані оптимальні дослідження для аналітичного супроводу пастил із естрадіолом. Прописані методики контролю, які необхідно було відтворити під час дослідження, результати яких отримали та розписали у розділі 3.

Розділ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В даній роботі наводяться експериментальні результати щодо визначення зовнішнього вигляду, однорідності маси дозованих одиниць та визначення кількісного вмісту діючих речовин у пастилах, що містять 0,07 г естрадіолу валерату.

3.1 Ідентифікація естрадіолу валерату у складі пастил

За вимогами ДФУ була проведена ідентифікація діючої речовини естрадіолу валеріату, були зроблені відповідні якісні реакції та отримані хроматограми, які підтверджують наявність діючої речовини у складі пастил. Для отримання надійних результатів при проведенні випробувань необхідно було здійснити пробопідготовку для вилучення естрадіолу з трошів.

А. Ідентифікація стероїдного циклу

Для ідентифікації діючої речовини необхідно взяти наважку на аналітичних вагах. Пастили розтопили за допомогою ультразвукової бані Sonorex Digitec DT100H, після чого була відібрана наважка, яка склала $m = 1.1357$ г. Додали сірчану кислоту концентровану, після чого з'явилося оранжево-червоне забарвлення, з жовто-зеленою флуоресценцією у відбитому світлі, при додаванні розчину феруму (III) амонію сульфату і води розчин темніє і випадає червонувато-коричневий осад (рис 3.1).



Рис. 3.1 Осад, який утворюється під час реакції ідентифікації стероїдного циклу

В. Ідентифікація Естрадіолу валеріату методом ВЕРХ

Ідентифікацію естрадіолу валеріату проводили за методом ВЕРХ (2.2.27) за методикою, наведеною у Європейській фармакопеї (ЄФ 10) [4]. Умови хроматографування були обрані відповідно до методики ЄФ, вони наведені в експериментальній частині.

Хроматограму з розчину порівняння, що виготовлений зі стандартного зразка естрадіолу валеріату (“Sigma-Aldrich”, $\geq 99\%$, HPLC), у присутності основи, представлено на рис. 3.2

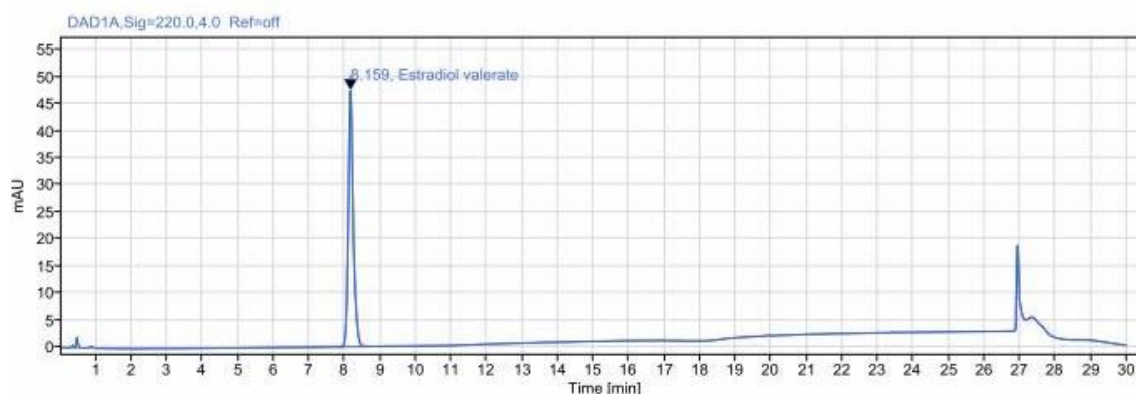


Рис. 3.2 Хроматограма стандартного зразку Естрадіолу

Хроматограма розчину порівняння (розчин стандартного зразка естрадіолу валерату 0,14 мг/мл) у присутності плацебо

На хроматограмі зазначеної на рисунку 3.2 можна чітко побачити пік стандартного зразка естрадіолу валеріату, компоненти основи, які були використанні не впливають на аналіз.

Хроматограму, яка була отримана з досліджуваного розчину пастили, представлено на рис. 3.3

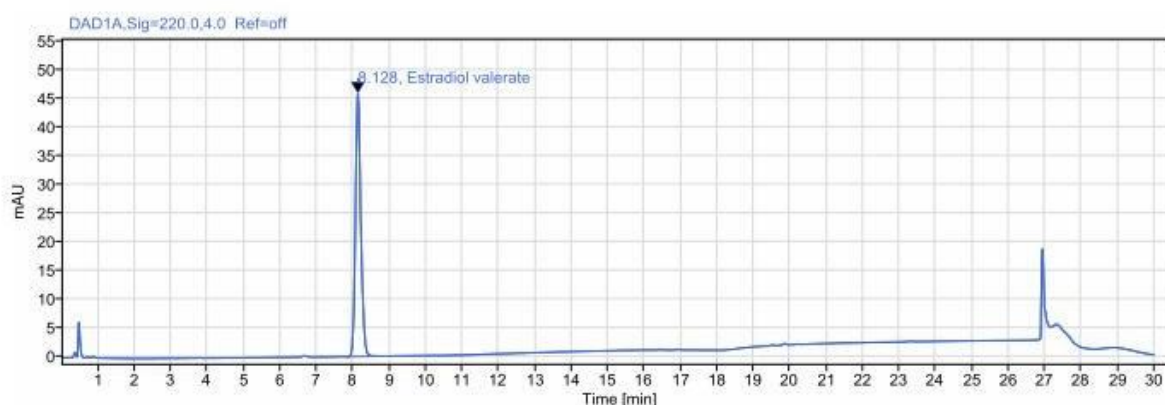


Рис. 3.3 Хроматограма випробуваного розчину пастили, що містить у складі естрадіол валерат

Як видно із результатів, хроматограма стандартного зразку (рис 3.2) повністю співпадає із хроматограмою випробуваної пастили (рис 3.3). Основний пік на обох хроматограмах спостерігається при 8,159 хв, що підтверджує наявність естрадіолу валеріату у складі пастил.

3.2. Однорідність маси однодозових препаратів

Результати визначення однородності маси однодозових препаратів за вимогами монографії ДФУ (2.9.5) для виготовлених пастил з естрадіолом 0,07 наведено в табл. 3.1.

За вимогами ДФУ «Лікарський засіб витримує випробування, якщо не більше двох індивідуальних мас відхиляються від середньої маси на величину, яка перевищує значення, зазначене у Табл. 2.9.5.-1 [36]. При цьому жодна індивідуальна маса не має відхилятися від середньої маси на величину, що у два рази перевищує значення, зазначене у Табл. 2.9.5.-1.

Як видно з одержаних експериментальних результатів (табл. 3.1), значення відхилення жодної індивідуальної маси виготовлених пастил від середньої не перевищує 5%.

Таблиця 3.1

Результати визначення однорідності маси пастил з естрадіолом 0,07

	m, г	m _{ср} , Г	m-m _{ср} , Г
1	1.13190	1.13408	-0.19%
2	1.11100		-2.03%
3	1.14519		+0.97%
4	1.10241		-2.79%
5	1.13704		+0.26%
6	1.14670		+1.1%
7	1.11198		-1.94%
8	1.14476		+0.94%
9	1.10749		-2.3%
10	1.15881		+1.97%
11	1.15647		+1.97%
12	1.13534		+0.11%
13	1.15815		+2.12%
14	1.10993		-2.12%
15	1.15865		+2.16%
16	1.12815		-0.52%
17	1.12904		-0.44%
18	1.12169		-1.09%
19	1.14298		+0.78%
20	1.14392		+0.86%

Розраховане під час цього випробовування значення середньої маси пастили ($m_{cp}=1.13408\text{г}$) в подальшому використовували для розрахунку кількісного вмісту діючих речовин.

3.3 Кількісний вміст естрадіолу

Визначення кількісного вмісту естрадіолу валеріату проводили за методом ВЕРХ (2.2.27) за методикою, наведеною у Європейській фармакопеї (ЄФ 10) [4]. Для оцінки коректності обраної технології та поділу на дози проводили визначення кількісного вмісту естрадіолу в 5 пастилах і здійснювали оцінку результату на відповідність вимогам монографії ДФУ 2.9.6. Однорідність вмісту однодозових препаратів [36].

Умови хроматографування були обрані відповідно до методики ЄФ, вони наведені в експериментальній частині.

На рис. 3.4 наведено бланк-хроматограму – результат хроматографування пастили, що не містить естрадіолу – плацебо, фактично готової основи, використаної для виготовлення пастил.

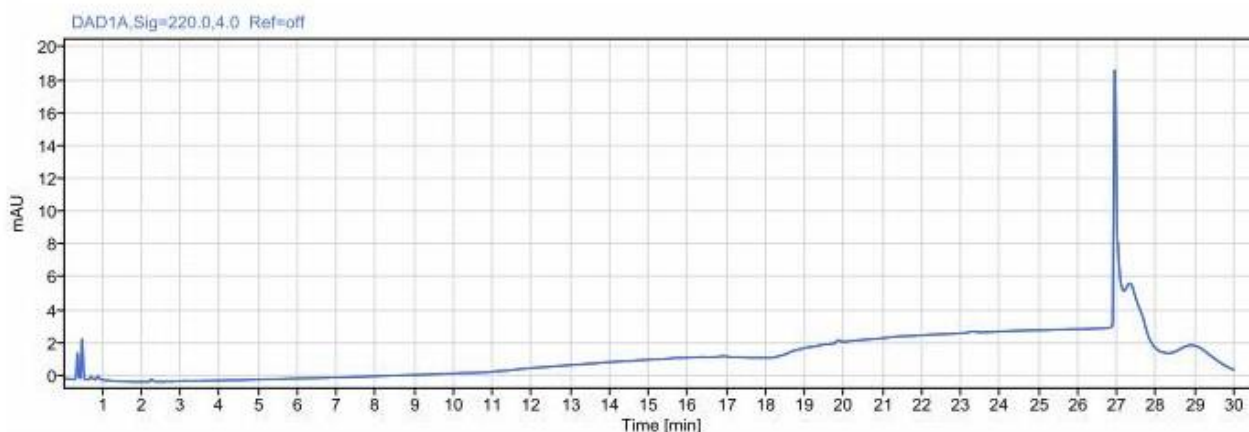


Рис. 3.4 Хроматограма з дослідження впливу плацебо (допоміжних речовин) на результати хроматографування.

Типову хроматограму з розчину порівняння, що виготовлений зі стандартного зразка естрадіолу валерату, у присутності основи, представлено на рис. 3.5.

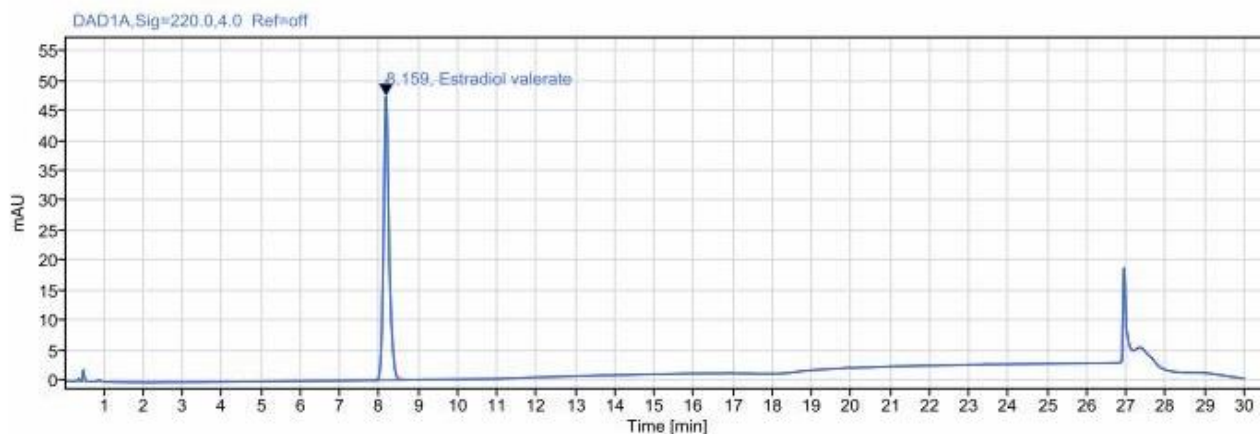


Рис. 3.5 Хроматограма розчину порівняння (розчин стандартного зразка естрадіолу валерату 0,14 мг/мл) у присутності плацебо

Як видно з хроматограми, наведеної на 3.4, компоненти основи не впливають на результати аналізу естрадіолу валеріату, пік якого спостерігається при 8,159 хв. Бланк-хроматограма на цій ділянці не має жодних піків чи шумів (рис. 3.4).

При визначенні кількісного вмісту естрадіолу валерату в пастилах нами було підібрано розведення для випробовуваного розчину. Оскільки при використанні концентрації стандартного зразка 0,14 мг/мл спостерігалась належна якість хроматографічного піка, нами розраховано розведення випробовуваного розчину для одержання подібної концентрації АФІ. Оскільки аналіз проводиться з однією пастилою, яка містить 0.7 мг естрадіолу валерату, то після розведенні пастили в 100 мл ацетонітрилу, концентрація АФІ в розчині А становить 0,7 мг/мл. Для досягнення цільової концентрації розчин А слід розвести в 5 разів. Тому для приготування розчину для аналізу 2,0 мл розчину А доводили ацетонітрилом до 10 мл. Хроматографування здійснювали за тих самих умов, що були використані для аналізу стандартного зразку. Типова хроматограма випробовуваного розчину з пастили з 0,7 мг естрадіола валерату наведена на рис. 3.6.

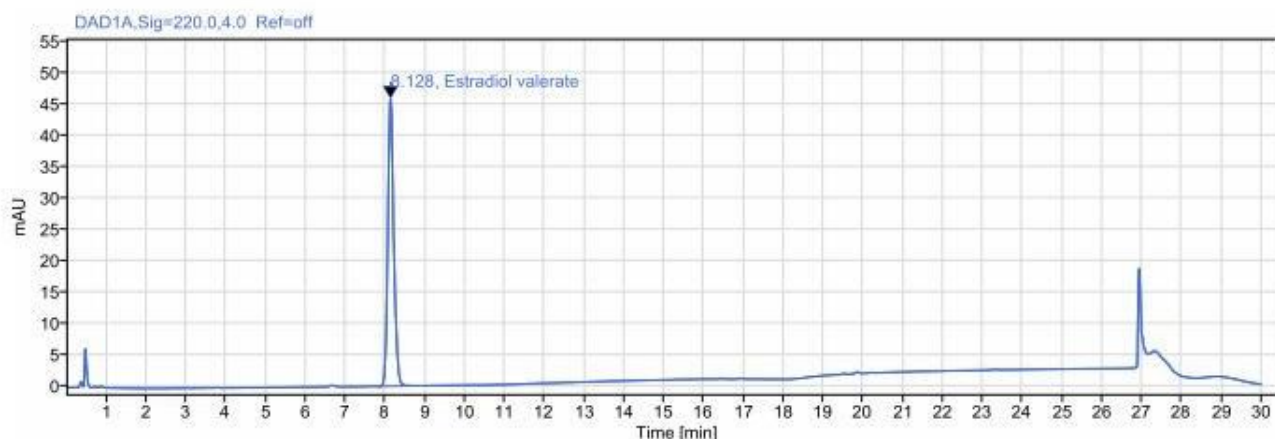


Рис. 3.6 Типова хроматограма випробовуваного розчину пастили з естрадіолу валератом 0,7 мг

Як видно з хроматограми (рис. 3.6) АФІ естрадіолу валерат добре розділяється з компонентами матриці, його час утримування чітко корелює зі значенням часу утримування стандартного зразку. На всіх хроматограмах випробовуваних розчинів спостерігались піки на рівні 8,1-8,3 хвилин з відповідним УФ-спектром, що відповідає часу утримування СЗ естрадіолу валерату (рис. 4). На всіх хроматограмах присутній пік неутримуваної матриці у мертвому об'ємі.

Хроматографування випробовуваних розчинів з кожної пастили проводили тричі. Для розрахунків кількісного вмісту брали середнє значення площі піку. Результати визначення кількісного вмісту естрадіолу пропіонату в пастилах наведено у таблиці 3.2

Таблиця 3.2

Кількісний вміст естрадіолу валерату в пастилах за результатами ВЕРХ-дослідження

№ зразка	1	2	3	4	5
M _n	1,13190	1.11100	1,1445	1.10241	1.13704

Площа піка (середнє з 3 вимірювань)	469,511	445,687	472,863	456,741	452,573
Кількісний вміст	0,00071	0,00069	0,00071	0,00071	0,00068
Відхилення від нормованого значення	+ 0,001, +1,43 %	- 0,001, -1,43%	+ 0,001, +1,43 %	+ 0,001, +1,43 %	-0,002, -2,86%

Як видно з результатів дослідження, кількісний вміст естрадіолу валерату коливається в обраних випадковим чином пастилах від 0,68 до 0,71 мг на одну пастилу. Відхилення у вмісті естрадіолу валерату становить від 1,43%(4 зразка) до 2,86 % (1 зразок).

Таким чином, обрана в умовах аптеки Хемотека технологія та склад допоміжних речовин, дозволяють одержати пастили естрадіолу валерату 0,7 мг з однорідним вмістом естрадіола валерату в дозованих одиницях.

Результати хроматографічних досліджень передано у відділ розробки.

Висновок до розділу 3

Був проведений аналітичний контроль пастил із естрадіолом валеріатом за такими показниками, як ідентифікація діючої речовини, визначення однорідності однодозованих речовин, а також кількісного вмісту естрадіолу валеріату.

Висновки

1. При проведенні аналізу літературних та інтернет джерел узагальнили данні, щодо використання естрадіолу валеріату, встановили потребу у новій сучасній екстемпоральній формі, яку можна виготовувати в умовах аптеки.
2. Був проведений статистичний аналіз ринку України та встановлені основні препарати, на основі естрадіолу, які використовують як гормональну терапію.
3. Провели літературний аналіз, щодо фізичних, хімічних, фармакологічних властивостей, основних шляхів метаболізму, методів контролю якості естрадіолу валеріату.
4. Проведено попередні дослідження показників якості пастил з естрадіолу валератом 0,07, вперше виготовлених *ex tempore* у центрі персоналізованої медицини «Хемотека» на відповідність вимогам ДФУ як елемент валідації технологічного процесу.
5. Згідно вимог Європейської фармакопеї була проведена ідентифікація діючої речовини у складі пастил. Було доведено завдяки якісним реакціям, а також хроматограмам наявність естрадіолу валеріату у новому оригінальному препараті екстемпорального виробництва.
6. Визначення кількісного вмісту проводили за методикою, наведеною в ЄФ для субстанції естрадіолу валеріату. Довели наявність в пастилах естрадіолу, а також встановили кількісний вміст діючої речовини, який склав 0,68 до 0,71 мг на одну пастилу. Відхилення у вмісті естрадіолу валерату становить від 1,43%(4 зразка) до 2,86 % (1 зразок).
7. Встановлено відповідність виготовленої лікарської форми вимогам ДФУ за показниками: Однорідність маси однодозових препаратів (відхилення в масі жодної пастили не перевищує 5%), максимальне та мінімальне відхилення від середньої маси пастили складала +2.16 та – 2.79 % відповідно.

Таким чином за даними попередніх досліджень обрані для виготовлення пастил технологічний процес та склад допоміжних речовин забезпечує їх належну якість.

При необхідності виробництва лікарського засобу серійно заплановано здійснення валідації методики кількісного визначення та проведення тесту «Розчинення».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Rose M. Estafanos, Compounding buccal delivery dosage forms: Consideration of the dose accuracy of troches and ODTs. *Research in Social and Administrative Pharmacy*. 2017. Vol. 13. Iss. 4. P. e33.
2. Carvalho M.; Almeida I. F. The Role of Pharmaceutical Compounding in Promoting Medication Adherence. *Pharmaceuticals*. 2022. № 15. P. 1091. URL: <https://doi.org/10.3390/ph15091091>. (Date of access: 23.06.2023).
3. Jensen J. T. Evaluation of a new estradiol oral contraceptive: Estradiol valerate and dienogest. *Expert Opin Pharmacother*. 2010. № 11 (7). P. 1147–1157.
4. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 11th Edition. URL: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition>. (Date of access: 23.04.2024).
5. Combined Index to USP 43 and NF 38, Volumes 1–5. URL: https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/usp-nf-commentary/usp-43-nf-38-index.pdf (Date of access: 23.04.2024).
6. Photodegradation of free estrogens driven by UV light: Effects of operation mode and water matrix / Fan Huang et al. *Science of The Total Environment*. 2022. Vol. 835. P. 155515.
7. Simultaneous Degradation of Estrone, 17 β -Estradiol and 17 α -Ethinyl Estradiol in an Aqueous UV/HO System. Int / X. Ma et al. *J Environ Res Public Health*. 2015. № 12 (10). P. 12016-29. DOI: 10.3390/ijerph121012016. (Date of access: 23.06.2023).
8. Bilal Yilmaz, Yucel Kadioglu. Determination of 17 β -estradiol in pharmaceutical preparation by UV spectrophotometry and high performance liquid chromatography methods. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017. Vol. 10, Suppl. 1. P. 1422–1428.
9. UV derivative spectrophotometric method for determination of estradiol valerate in tablets / S. L. Andreas et al. *Quím. Nova*. 2010. Vol. 33(4). P.

- 981–983. DOI: 10.1590/S0100-40422010000400040. (Date of access: 23.06.2023).
10. Zeynep Aydoğmuş, Ece Merve Yılmaz, Sevgi Yörüsün, Samet Akpınar. Development of Simultaneous Derivative Spectrophotometric and HPLC Methods for Determination of 17-Beta-Estradiol and Drospirenone in Combined Dosage Form. *International Scholarly Research Notices*. 2015. Vol. 2015. P. 534065. DOI: 10.1155/2015/534065_ (Date of access: 23.06.2023).
 11. Application of TLC-Densitometry for Analysis of Estradiol Hemihydrate in Dosage Forms / D. D. Tsvetkova et al. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2016. Vol. 50(3). P. 482-488. DOI: 10.5530/ijper.50.3.23 (Date of access: 23.06.2023).
 12. Establishment of an HPLC identification system for detection of counterfeit steroidal drugs / Ya-Qin Shi et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008. Vol. 46, № 4. P. 663-669. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.11.034. (Date of access: 23.06.2023).
 13. Development and validation of a reversed-phase liquid chromatographic method for analysis of estradiol valerate and medroxyprogesterone acetate in a tablet formulation / A. Segall et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1999. Vol. 19, Issue 5. P. 803-808. DOI: 10.1016/S0731-7085(98)00120-4. (Date of access: 23.06.2023).
 14. Madhu M., Satyadev T. N. V. S. S., Hephzibah G., Reddy T. V. Validated RP-HPLC method for the determination of estradiol valerate in bulk and pharmaceutical formulations. *Der Pharm Lett*. 2016. Vol. 8(4). P. 50-61.
 15. Szabolcs Fekete, Jenő Fekete, Katalin Ganzler. Validated UPLC method for the fast and sensitive determination of steroid residues in support of cleaning validation in formulation area. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2009. Vol. 49, Issue 3. P. 833-838.
 16. Kun Zhang, Karl Fent. Determination of two progestin metabolites (17 α -hydroxypregnanolone and pregnanediol) and different classes of steroids

- (androgens, estrogens, corticosteroids, progestins) in rivers and wastewaters by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *Science of The Total Environment*. 2018. Vol. 610–611. P. 1164-1172. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.114. (Date of access: 23.06.2023).
17. Juan José Triviño, Marisol Gómez, Javiera Valenzuela, Ariesny Vera, Verónica Arancibia. Determination of a natural (17β -estradiol) and a synthetic (17α -ethinylestradiol) hormones in pharmaceutical formulations and urine by adsorptive stripping voltammetry. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2019. Vol. 297. P. 126728. DOI: 10.1016/j.snb.2019.126728. (Date of access: 23.06.2023).
 18. Hwa-Shim Lee, Kwang-Hoon Oh. Purity assignment of 17β -estradiol by mass balance method. *Analytical science and technology*. 2017. Vol. 30, № 5. P. 226-233
 19. United States Pharmacopeial Convention. Compounding Compendium. In Current with USP 43-NF 38 through Second Supplement; United States Pharmacopeial Convention. Rockville, 2020.
 20. Allen L. V. The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Comp. Chapter 14: Lozenges, Troches, and Films. 6th Edition. 2020. DOI: 10.21019/9781582123578 (Date of access: 23.06.2023).
 21. Hejaz H. A., Kanan A., Al Mohtaseb M., Ja'bari A. Development and characterization of paracetamol medicated lollipops. *Pharm. Technol. Hosp. Pharm.* 2020. Vol. 5. P. 20200012.
 22. Allen L.V. Tetracycline Compound Troche. *Int. J. Pharm. Compd.* 1997. Vol. 1. P. 113.
 23. Muller G., Case T., Deen G. L. Tetracaine lollipops for the suppression of extreme gag reflex in dental patients. *Int. J. Pharm. Compd.* 2013. Vol. 14. P. 395.
 24. Dubins D., Laschuk A., Ho C. Extemporaneous Compounding in Pharmacy Practice / Editor(s): Zaheer-Ud-Din Babar, Encyclopedia of Pharmacy

- Practice and Clinical Pharmacy, Elsevier, 2019. P. 418-451. URL: <https://experts.mcmaster.ca/display/publication3305450> (Date of access: 23.06.2023).
25. Mucoadhesive Buccal Film of Estradiol for Hormonal Replacement Therapy: Development and In-Vivo Performance Prediction / S. Abdella. *Pharmaceutics*. 2022. Vol. 14. P. 542. DOI: 10.3390/pharmaceutics14030542 (Date of access: 23.06.2023).
 26. Loyd V. Allen. Estradiol 0.25 mg and Estrone 0.25 mg Troches. *US Pharm*. 2014. Vol. 39(9). P. 61-62.
 27. Allen LV Jr. Standard operating procedure for performing physical quality assessment of suppositories, troches, lollipops and sticks. *IJPC*. 1999. Vol. 3. P. 56-57.
 28. Harper-Harrison G., Shanahan M. M. Hormone Replacement Therapy. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493191/> (Date of access: 23.06.2023).
 29. Häggström M. Richfield D. Diagram of the pathways of human steroidogenesis. *Wiki Journal of Medicine*. 2014. Vol. 1 (1). DOI: 10.15347/wjm/2014.005 (Date of access: 23.06.2023).
 30. Sadikalmahdi Abdella, Franklin Afinjuomo, Yunmie Song, Richard Upton. 3D printed bilayer mucoadhesive buccal film of estradiol: Impact of design on film properties, release kinetics and predicted in vivo performance. *International Journal of Pharmaceutics*. 2022. Vol. 628. P. 122324. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.122324. (Date of access: 23.06.2023).
 31. Wren B. G., Day R. O., McLachlan A. J., Williams K. M. Pharmacokinetics of estradiol, progesterone, testosterone and dehydroepiandrosterone after transbuccal administration to postmenopausal women. *Climacteric*. 2003. Vol. 6(2). P. 104-11.
 32. Allen Loyd V Jr Clotrimazole 10-mg Troches. *IJPC*. 2022. № 4. P.42
 33. Compounded Testosterone Troches to optimize Health and the Testosterone Controversy. Guth Michael AS. *IJPC*. 2015, №3. P.195-203

34. Allen Loyd V Jr. Diphenhydramine Hydrochloride 25-mg Gelatin Troches
IJPC. 2009. Vol. № 1. P. 69.
35. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
36. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Допов. 4. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2020. 600 с.

ДОДАТКИ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ
НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

МАТЕРІАЛИ
XXIX МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ТА СТУДЕНТІВ

19-21 квітня 2023 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2023

АНАЛІТИЧНИЙ СУПРОВІД ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ РОЗРОБКИ ОРИГІНАЛЬНОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ПАСТИЛОК З ЕСТРАДІОЛОМ ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ В УМОВАХ АПТЕКИ

Забава Р.І.

Науковий керівник: Георгіянц В.А.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

ruslanzabava01@gmail.com

Вступ. На сьогоднішній час існує дуже велика проблема, як порушення виробітки статевих гормонів у жінок. Це відбувається під час такого стану, як менопауза (клімакс), тому жінкам необхідно приймати препарати на основі Естрогену, які відіграють велику роль у здоров'ї жіночого організму. Естрадіол – це естрогенний стероїдний гормон, що виробляється в яєчниках. Відіграє важливу роль у правильному формуванні та функціонуванні статеві системи. Цей гормон заповнює дефіцит естрогенів у період менопаузи, забезпечуючи лікування клімактеричних розладів: припливів, гіпергідрозу, емоційної лабільності, тахікардії, кардіалгії, нетримання сечі внаслідок ослаблення сфінктера сечового міхура. Знімає більшість статевих зносин внаслідок сухості слизової оболонки піхви, запобігає інволюції шкіри за рахунок посилення утворення колагенових волокон. При регулярному застосуванні знижуються рівні загального холестерину, ліпопротеїдів низької щільності, підвищується вміст тригліцеридів та

91

Секція 3

«СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКІВ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ АНАЛІЗ»

ліпопротеїдів високої щільності, що запобігає розвитку та прогресуванню атеросклерозу. Естрадіол пригнічує активність остеокластів, запобігаючи розвитку постменопаузального остеопорозу. На базі центру персоналізованої фармації «Хемотека» були розроблені пастилки на основі Естрадіолу валеріату, а також були проведені дослідження показників якості.

Мета дослідження. Встановити якість пастилки з естрадіолу валеріатом 0,07, вперше виготовлених *ex tempore* у центрі персоналізованої фармації «Хемотека» на відповідність вимогам ДФУ як елемент валідації технологічного процесу.

Матеріали та методи. Відповідно до вимог USP Compounding для контролю якості серійного виготовлення пастилок (трошків) мають бути встановлені використовують такі показники: вага, питома вага, кількісне визначення активної речовини, однорідність дозованих мас, текстура-поверхня, зовнішній вигляд, відчуття, тест «розчинення». Однорідність маси однодозових препаратів досліджували відповідно до вимог монографії ДФУ 2.9.5. Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу. Кількісне визначення естрадіолу здійснювали методом ВЕРХ з використанням стандартного зразка estradiol valerate CRS (EP).

Результати дослідження. Однорідність маси однодозових препаратів: Із одержаних експериментальних результатів, значення відхилення жодної індивідуальної маси виготовлених пастилок від середньої не перевищує 5%. Розраховане під час цього випробовування значення середньої маси пастилки ($m_{\text{ср}}=1.13408\text{г}$) в подальшому використовували для розрахунку кількісного вмісту діючих речовин. Кількісне визначення

Продовж. дод. А

Результати дослідження. Однорідність маси однодозових препаратів: Із одержаних експериментальних результатів, значення відхилення жодної індивідуальної маси виготовлених пастил від середньої не перевищує 5%. Розраховане під час цього випробовування значення середньої маси пастили ($m_{\text{ср}}=1.13408\text{г}$) в подальшому використовували для розрахунку кількісного вмісту діючих речовин. Кількісне визначення естрадіолу: кількісний вміст естрадіолу валерату в обраних випадковим чином пастилах коливається від 0,068 до 0,071 г на одну пастилу. Відхилення у вмісті естрадіолу валерату становить від 1,43%(4 зразка) до 2,86 %

Висновки. Проведено попередні дослідження показників якості пастил з естрадіолу валератом 0,07, вперше виготовлених *ex tempore* у центрі персоналізованої медицини «Хемотека». Встановлено відповідність виготовленої лікарської форми вимогам ДФУ за показниками: Однорідність маси однодозових препаратів (відхилення в масі жодної пастили не перевищує 5%), кількісний вміст та Однорідність маси однодозових препаратів (відхилення у вмісті естрадіолу в жодній пастилі не перевищує 5%). При необхідності виробництва лікарського засобу серійно заплановано здійснення валідації методики кількісного визначення та проведення тесту «Розчинення».