

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**PANTOPRAZOLA GATAVĀS ZĀĻU FORMAS
FORMULĀCIJA UN ANALĪTISKO METOŽU
IZSTRĀDE**

MAGISTRA DARBS

Autors: **Alise Pluce**

Studenta apliecības Nr.: ap 19174

Darba vadītāji: Doc., Dr. chem. Agnese Osīte

Mg.chem. Kaspars Kuprevičs

RĪGA 2021

ANOTĀCIJA

Pantoprazola gatavās zāļu formas formulācija un analītisko metožu izstrāde. Pluce A., zinātniskie vadītāji Dr. Chem., docente Osīte A., Mg. Chem., Kuprevičs K. Maģistra darbs, 60 lappuses, 15 attēli, 18 tabulas, 60 literatūras avoti, 25 pielikumi. Latviešu valodā.

Literatūras apskatā ir apkopota informācija par pantoprazola vispārīgo raksturojumu, izstrādes pamatprincipiem gan formulācijai, gan analītiskajām metodēm, kā arī liofilizācijas procesu un tā ietekmi uz farmaceitisko produktu. Darba eksperimentālajā daļā tika veikta piemērotas formulācijas, liofilizācija cikla un analītisko metožu izstrāde un izvērtēšana gatavajai zāļu formai, lai, veicot stabilitātes pētījumus, iegūtie rezultāti būtu saskaņā ar noteiktajām prasībām produkta kvalitātes specifikācijā.

PANTOPRAZOLS, GATAVĀ ZĀĻU FORMA, FORMULĀCIJA, ANALĪTISKĀS
METODES, STABILITĀTE, LIOFILIZĀCIJA

ABSTRACT

Development of the formulation and analytical methods for the finished dosage form of pantoprazole. Pluce A., scientific supervisors Dr. chem., doc. Osīte A. and Mg.chem. Kuprevičs K. Reaserch work report, 60 pages, 15 figures, 18 tables, 60 literature references, 25 attachements. In Latvian.

The literature review includes information about the general characteristics of pantoprazole, the basic principles of development for both formulation and analytical methods, as well as the lyophilization and its impact on the drug product. In the experimental part of the work, a suitable formulation, lyophilisation cycle and analytical methods for the finished dosage form were developed, so the obtained results during the stability studies would be in accordance with the requirements of the drug product quality specification.

PANTOPRAZOLE, FINISHED DOSAGE FORM, FORMULATION, ANALYTICAL METHODS, STABILITY, LYOPHILIZATION

SATURA RĀDĪTĀJS

| | |
|--|----|
| APZĪMĒJUMU SARAKSTS | 5 |
| IEVADS | 6 |
| 1. LITERATŪRAS APSKATS | 7 |
| 1.1. Pantoprazola vispārīgs raksturojums | 7 |
| 1.2. Pantoprazola farmakokinētiskās īpašības | 8 |
| 1.3. Pantoprazola pielietojums medicīnas nozarē | 9 |
| 1.4. Pantoprazola formulācijas izstrāde | 12 |
| 1.5. Liofilizācija | 15 |
| 1.5.1. Liofilizācijas priekšrocības un trūkumi | 16 |
| 1.5.2. Liofilizācijas process | 17 |
| 1.5.3. Liofilizēto produktu stabilitāte | 18 |
| 1.6. Šķidruma hromatogrāfijas nozīme farmācijas nozarē | 19 |
| 1.7. Analītisko metožu izstrāde | 21 |
| 1.7.1. Aktīvās vielas raksturojums un analīžu metodes | 21 |
| 1.7.2. Gatavās zāļu formas analīžu metodes | 24 |
| 1.7.3. Analītisko metožu salīdzinājums | 30 |
| 2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA | 33 |
| 2.1. Reāģenti, aparatūra un paraugi | 33 |
| 2.2. Analītisko metožu izstrāde | 34 |
| 2.3. Liofilizācijas cikla izstrāde | 40 |
| 2.4. Pantoprazola pilotsērijas analizēšana | 42 |
| 3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS | 47 |
| 3.1. Analītisko metožu izvērtēšana | 47 |
| 3.2. Pantoprazola pilotsērijas stabilitātes pētījumu izvērtēšana | 52 |
| SECINĀJUMI | 54 |
| IZMANTOTĀ LITERATŪRA | 55 |
| PIELIKUMI | 61 |

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

Ph.Eur – Eiropas farmakopeja

AFV – Aktīva farmaceitiskā viela

ATĶ kods – Anatomiski terapeitiski ķīmiskais kods

H⁺, K⁺-ATPāze – Kuņģa ūdeņraža kālija ATPāze (ferments, kurš darbojas organismā, lai paskābinātu kuņģi)

ATP – Adenozīntrifosforskābe

i.v. – Intravenoza ievadīšana

AUC – noteikts līknes integrālis, kas apraksta zāļu koncentrācijas izmaiņas asins plazmā atkarībā no laika

t_{max} – Maksimālā temperatūra

LRP – Labas Ražošanas Prakse

ICH – International Council for Harmonisation (*Starptautiskā saskaņošanas padome*)

EDQM – European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare

(*Eiropas Zāļu Kvalitātes un Veselības Aprūpes Direktoru padome*)

HPLC/MS – Augsti efektīvās šķidrums hromatogrāfijas masspektrometrija

RP-HPLC – Apgrieztās fāzes augsti efektīvās šķidrums hromatogrāfija

TLC – Plānslāņa hromatogrāfija

In-house metode – uzņēmuma izstrādāta metode

IEVADS

Pantoprazols ir aizvietots benzimidazols, kurš pieder pie zāļu klases, kas pazīstama kā “protonu sūkņu inhibitori”. Pantoprazola galvenās darbības cilvēka organismā ir mazināt kuņģa sulas skābumu un attiecīgi paaugstināt peptīda gastrīna līmeni proporcionāli vides skābuma mazinājumam. Farmaceutiskais produkts gandrīz pilnībā tiek metabolizēts aknās ar citohroma P450 enzīmu sistēmas starpniecību.

Pantoprazola ražošana aizsākās 80.gadu beigās ar gatavo zāļu formu tablešu veidā. Tā kā ne visiem cilvēkiem ir piemērota perorāla zāļu lietošana, tika izstrādāts liofilizēts pulveris injekciju šķīduma pagatavošanai, kurš ir paredzēts intravenozai ievadīšanai. Šāda gatavā zāļu forma pantoprazolam ir lielisks papildinājums farmaceutiskajai nozarei, taču paša produkta izstrāde ir ļoti sarežģīta, laikietilpīga un dārga, jo pantoprazols šķīst ūdenī, bet tā ūdens šķīdums ir nestabils ātrā metabolisma procesa dēļ, kā rezultātā produktu nevar uzglabāt ilgu laiku. Galvenokārt šādos gadījumos farmaceutiskā produkta izstrādei pielieto pulvera liofilizāciju, kura spēj nodrošināt nestabiliem šķīdumiem ilgu glabāšanas laiku, tos uzglabājot istabas temperatūrā.

Darba mērķis – izvērtēt izstrādātās formulācijas, liofilizācijas cikla un analītisko metožu piemērojamību pantoprazola pilotsērijai, lai iegūtie pētījumu rezultāti būtu saskaņā ar noteiktajām parametru prasībām produkta kvalitātes specifikācijā.

Darba uzdevumi:

1. Apkopot zinātnisko literatūru par pantoprazola vispārīgo raksturojumu, kā arī pamatprincipus formulācijas, analītisko metožu un liofilizācijas cikla izstrādei;
2. Izstrādāt piemērotu formulāciju un liofilizācijas ciklu gatavajai zāļu formai;
3. Pielāgot aktīvi farmaceutiskās vielas piemaisījumu un kvantitatīvā satura analīžu metodes gatavajai zāļu formai;
4. Veikt stabilitātes pētījumus pantoprazola pilotsērijai, lai pilnvērtīgi sagatavotos pilna mēroga partijai;
5. Izvērtēt iegūtos rezultātus pantoprazola pilotsērijai.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Pantoprazola vispārīgs raksturojums

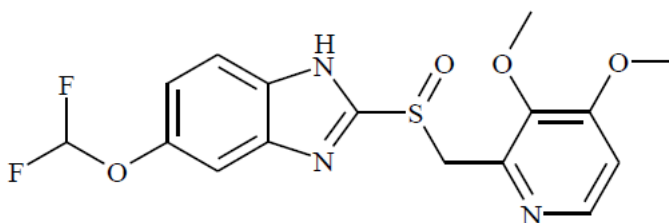
Šis preparāts pieder pie protona sūkņu inhibitoru farmakoterapeitiskās grupas, un tā ATK kods attiecīgi ir A02BC02. Pantoprazola injekcija ir specifisks kuņģa inhibitors enzīmam H^+ , K^+ -ATPāzei (protona sūknim), kas ir galvenokārt atbildīgs par skābes sekrēciju kuņģa parietālajās šūnās kuņģa epitēlijā. Pantoprazols ir aizvietots benzimidazols, kurš skābes vides apstākļos pēc absorbcijas uzkrājas parietālās šūnās. Pēc šī procesa pantoprazols ir pārveidots par aktīvu formu – ciklisku sulfenamīdu, kas selektīvi saistās pie H^+ , K^+ -ATPāzes protona translokācijas reģiona, kā rezultātā inhibējot gan bazālo, gan stimulēto kuņģa skābes sekrēciju atkarībā no devas.¹

Pantoprazols efektīvi darbojas skābā vidē ($pH < 3$) un pie augstāka pH tas galvenokārt ir neaktīvs. Tā farmakoloģiskais un terapeitiskais efekts tiek sasniegts skābes sekrēcijas parietālajās šūnās. Pantoprazola galvenās darbības cilvēka organismā ir mazināt kuņģa sulas skābumu un attiecīgi paaugstināt gastrīna līmeni proporcionāli vides skābuma mazinājumam. Gastrīna līmeņa paaugstināšanās ir atgriezeniska.²

Pantoprazols spēj nomākt kuņģa skābes sekrēciju neatkarīgi no stimulācijas ar citām vielām (acetilholīnu, histamīnu, gastrīnu), piesaistoties pie enzīma distāli attiecībā pret receptora līmeni. Šī ietekme uz pacientu ir vienāda, ievadot aktīvo vielu gan intravenozi, gan perorāli.³ Pantoprazola molekulāro formulu var apskatīt 1.1. attēlā.

Izstrādātā gatavā zāļu forma būs paredzēta kā šķīdums injekcijām tikai intravenozai lietošanai, atšķaidot ar sekojošiem infūziju šķīdumiem:

1. 0,9 % nātrija hlorīda šķīdums;
2. 5 % glikozes šķīdums.



1.1.att. Pantoprazola molekulārā struktūra⁴

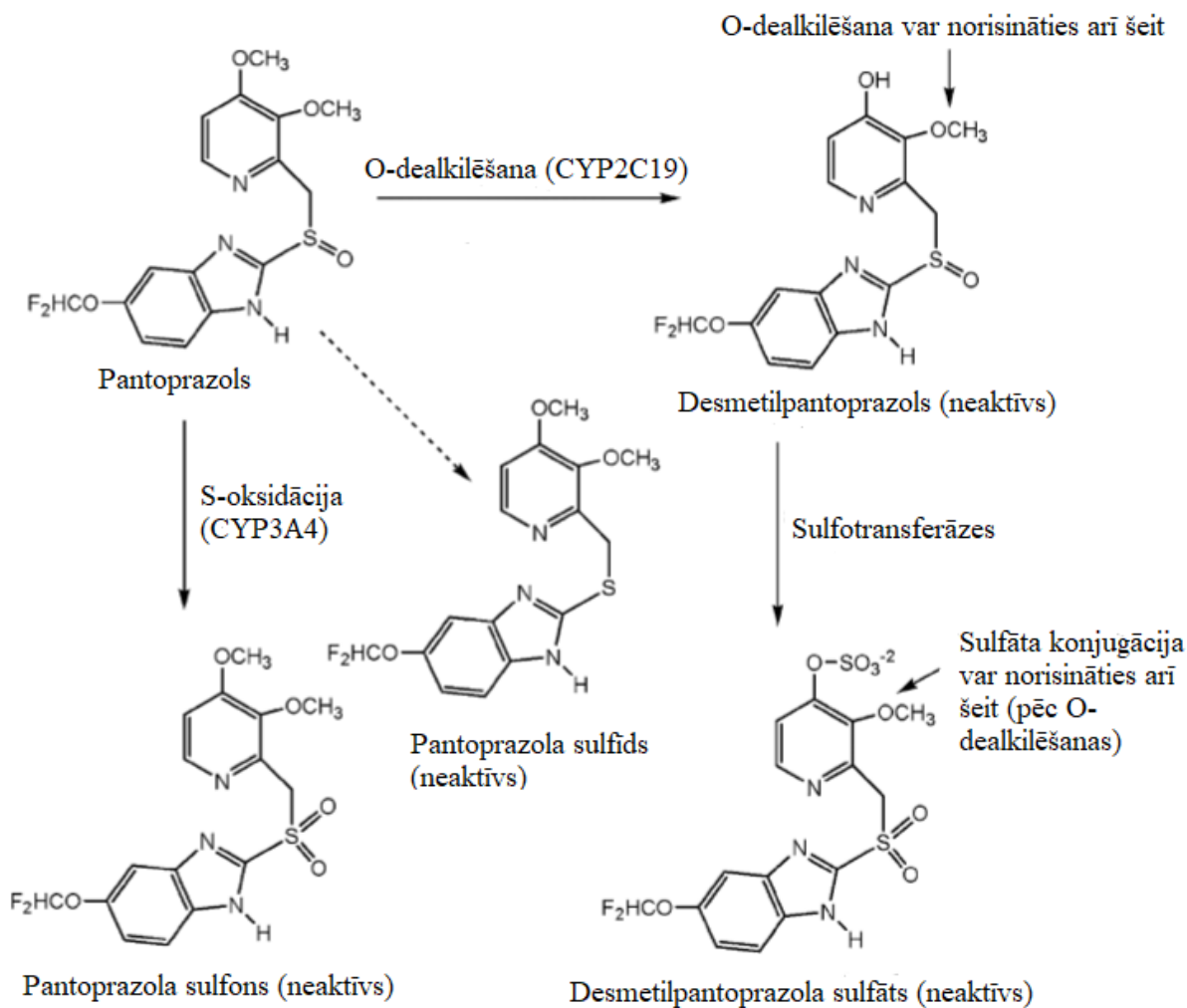
1.2. Pantoprazola farmakokinētiskās īpašības

Absorbcijs: Pantoprazols ātri un pilnīgi uzsūcas zarnās, ievadot perorāli 40 mg šķīstošo tableti. Tā absolūtā biopieejamība salīdzinājumā ar *i.v.* zāļu formu ir 77%, kas saglabājas nemainīgi pēc vairākkārtējas lietošanas. Aptuveni 2,0 h – 3,0 h pēc vienas 40 mg perorālas devas lietošanas (t_{max}) sasniegtā maksimālā koncentrācija serumā (C_{max}) ir aptuveni 2,5 µg/ml. Medikamenta lietošana vienlaikus ar pārtiku neietekmē ne biopieejamību (AUC), ne maksimālo koncentrāciju C_{max} .

Izkliede: 98% pantoprazola saistās ar seruma proteīniem. Eliminācijas pusperiods, klīrenss un izkļedes tilpums nav atkarīgs no devas.⁵

Metabolisms un izvadīšana: Pantoprazols gandrīz pilnībā tiek metabolizēts aknās ar citohroma P450 enzīmu sistēmas starpniecību. Galvenais metabolisma ceļš ir CYP2C19 izraisīta demetilēšanās, kas turpinās ar sulfāta saistīšanu. Liela loma no metabolismu veidiem piemīt arī oksidēšanai ar CYP3A4 palīdzību.⁶

Galvenokārt pantoprazola metabolītu eliminācijas veids norisinās caur nierēm (aptuveni 82 %). Atlikušie metabolīti tiek izvadīti ar izkārnījumiem. Galvenais metabolīts gan serumā, gan urīnā ir desmetilpantoprazols, kas konjugēts ar sulfāta grupu. Galvenā metabolīta eliminācijas pusperiods (apmēram 1,5 h), kas ir salīdzinoši tuvu pantoprazola eliminācijas pusperiodam (apmēram 1 h).⁷ Pantoprazola metabolisma shēmu var apskatīt 1.2. attēlā.



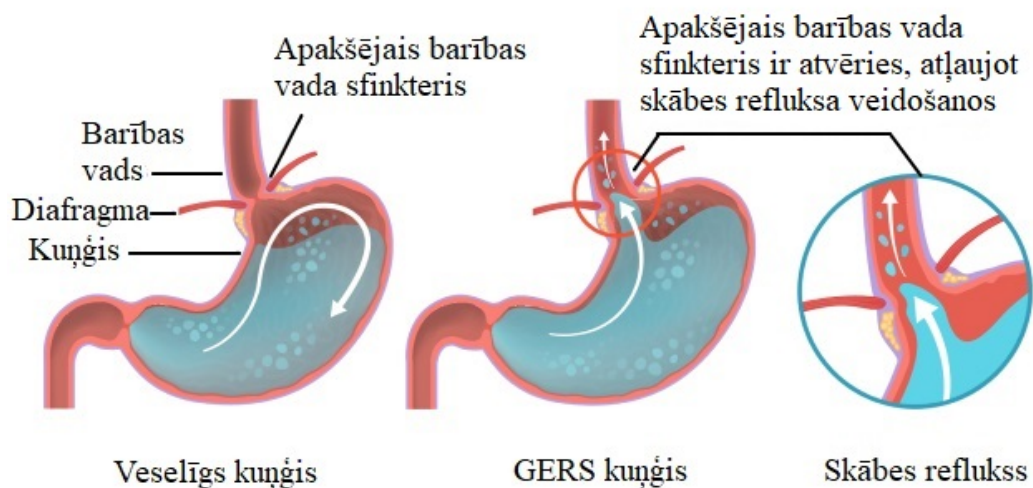
1.2.att. Pantoprazola metabolisms

1.3. Pantoprazola pielietojums medicīnas nozarē

Publikācija⁸ vēsta, ka gastroezofageālā refluksa slimība (GERS) ir hroniska, periodiska slimība, kas skar gandrīz 19 miljonu cilvēku ASV. GERS galvenais ārstniecības terapijas pamats ir skābes nomākšana kuņģī. Protonu sūkņa inhibitori (PSI) ir visefektīvākie medikamenti gan slimības sākotnējai ārstēšanai, gan ilgstošai terapijai.

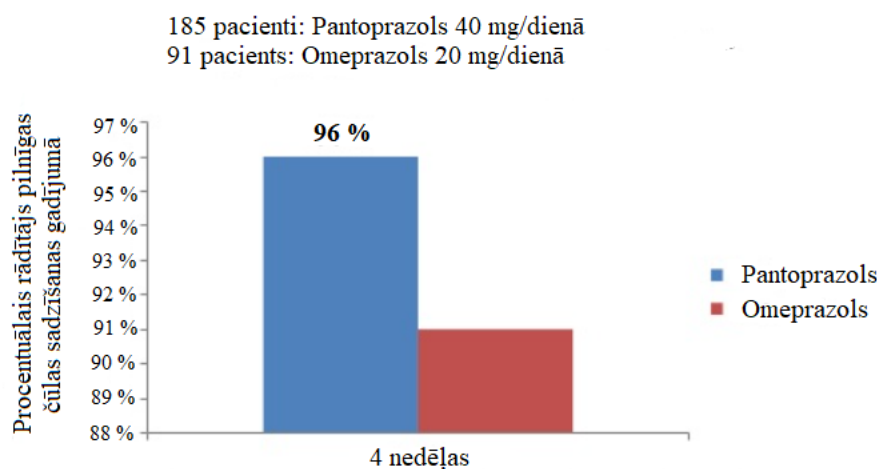
2000. gadā FDA apstiprināja pantoprazolu GERS ārstēšanai kā pirmo PSI, un šobrīd produkts tiek izmantots vairāk, nekā 100 valstīs visā pasaulē, jo pantoprazols ir viens no nedaudzajiem PSI, kas ir komerciāli pieejams vairākās formās, tostarp kapsulās, suspensijās iekšķīgai lietošanai un liofilizētos pulveros intravenozai lietošanai. Ir pierādīts, ka pantoprazols uzlabo skābes refluksa simptomus, dziedē ezofagītu un uzlabo veselības stāvokli

efektīvāk nekā histamīna-2 receptoru antagonisti. Novērots vairāk nekā 100 klīniskajos pētījumos, ka pantoprazolam ir zema mijiedarbība ar citiem medikamentiem, kā arī tas ir drošs un efektīvs speciālo pacientu populācijai, piemēram, vecāka gadagājuma cilvēkiem un pacientiem ar nieru vai vidēji smagu aknu slimībām. Skābes refluksa mehānismu kuņģī var redzēt 1.3. attēlā.



1.3.att. Skābes refluksa radītie cēloņi

Literatūras avoti vēsta, ka pantoprazola terapija ir efektīva arī divpadsmitpirkstu zarnu čūlas ārstēšanai. Shematisku salīdzinājumu ar citu PSI (omeprazolu) var apskatīt 1.4. attēlā.



1.4.att. Pantoprazola un omeprazola salīdzinājums akūtas divpadsmitpirkstu zarnas čūlas ārstēšanā⁹

Kopumā zinātnisko rakstu informācija vēsta, ka pantoprazols ir nepieciešams farmaceitiskais produkts mūsdienu medicīnai, jo GERS skar aptuveni 19 miljonus cilvēku tikai ASV, kas ir 20 % attiecībā pret ASV iedzīvotāju skaitu. Liels īpatsvars tiek novērots arī Eiropā (8,8 – 25,9 %), Tuvajos Austrumos (8,7 – 33,1 %), Austrumu Āzijā (2,5 – 7,8 %), kā arī Austrālijā (11,6 %). Zinātnieki atzīst, ka noteiktie skaitļi patiesībā varētu būt pat krietni lielāki, jo bieži vien pacientiem netiek uzstādīta pareizā diagnoze. Vairākas publikācijas vēsta, ka pacienti, kuriem atklāts GERS, ziņo par sliktāku dzīves kvalitāti nekā diabēta, hipertensijas vai vieglas sirds mazspējas pacienti.

Pantoprazola nepieciešamība nav tikai specifiskām slimībām, bet arī pacientiem, kuri nespēj lietot iekšķīgi lietojamus medikamentus. Publikācijā¹⁰ pierāda, ka pantoprazola intravenoza lietošana sniedz tādu pašu efektivitāti pacientam kā tabletes iekšķīgai lietošanai, kā rezultātā nav nepieciešams veikt izmaiņas devas pielāgošanai pacientiem, izmantojot citu zāļu formu.

1.4. Pantoprazola formulācijas izstrāde

Pantoprazols šķīst ūdenī, taču tā ūdens šķīdums ir nestabils ātrā metabolisma procesa dēļ, kura rezultātā produktu nevar uzglabāt ilgu laiku. Galvenokārt šādos gadījumos farmaceitiskā produktā izstrādei pielieto pulvera liofilizāciju.

Liofilizācija jeb žāvēšana izsaldējot, ietver ūdens vai cita šķīdinātāja atdalīšanu no sasaldēta produkta ar procesu, ko sauc par sublimāciju, kam savukārt seko desorbcija. Liofilizācija ir daudzpakāpju darbība, kurā katrs posms ir kritisks. Parenterālai lietošanai, kad preparāta ievade notiek, apejot gremošanas traktu, paredzētie saldētie-žāvētie produkti ir pazīstami kā pulveri injekcijām vai infūzijām.¹¹ Lai izstrādātu liofilizēta produkta formulāciju, ir nepieciešami vairāki soļi:

1. Literatūras apkopojums;
2. Aktīvās vielas un palīgvielu sagatavošana;
3. References produkta analizēšana un raksturojums;
4. Analītisko metožu izstrāde;
5. Formulācijas izstrāde;
6. Liofilizācijas cikla izstrāde;
7. Liofilizācijas pētījumi produktam;
8. Liofilizētā produkta novērtēšana;
9. Stabilitātes pētījumi saskaņā ar ICH vadlīnijām.

Visi farmaceitiskie produkti ir izstrādāti pēc piemērotām zāļu formām, ar kuru palīdzību var visefektīvāk tās piegādāt pacientam. Pie tipiskām farmaceitiskām zāļu formām pieder tabletes iekšķīgai lietošanai, kapsulas, šķīdumi, suspensijas, ziedes un želejas, kā arī injekcijas intravenozai (IV), intramuskulārai (IM) vai zemādas (SC) ievadīšanai. Dažādām zāļu formām ir nepieciešamas atšķirīgas farmaceitiskās tehnoloģijas un to sagatavošanai parasti ir atšķirīgas pieejas.¹²

Formulāciju var definēt kā produkta sastāvu, kas ietver aktīvo farmaceitisko vielu (AFV) un palīgvielas. Piemērotai farmaceitiskā produkta formulācijai ir jābūt stabilai gan ražošanas procesā, gan uzglabāšanas laikā, kā arī bioloģiski pieejamai, proti, katrā devā ir jābūt precīzam AFV daudzumam, kuru ir iespējams viegli absorbēt cilvēka ķermenim.

Palīgvielas ir neatņemama farmaceitisko produktu izstrādes sastāvdaļa, lai sasniegtu vēlamu produkta stabilitāti un iedarbību uz pacientu. Pareiza palīgvielu izvēle ir svarīga, lai

izvairītos no negatīvās ietekmes uz produktu, piemēram, šķīdības, kā arī aktivitātes un stabilitātes zuduma. Katra pievienotā palīgviela produktam darbojas kā noteikta funkcija, piemēram, kā saistviela vai līdzeklis pH regulēšanai.¹³ Gatavās zāļu formas īpašības galvenokārt ir atkarīgas no izvēlētajām palīgvielām, to koncentrācijas un mijiedarbības ar aktīvi farmaceitisko vielu. Pantoprazola izvēlēto sastāvu un to funkciju apkopojumu var apskatīt 1.1. tabulā.

1.1. tabula

Pantoprazola ķīmiskais sastāvs un to funkcijas

| Sastāvdaļas | Funkcija | Kvalitāte |
|------------------------------------|---------------------------|------------------|
| <i>Aktīvi farmaceitiskā viela:</i> | | |
| Pantoprazola nātrija seskvihidrāts | Aktīvā sastāvdaļa | Ph.Eur. |
| <i>Palīgvielas:</i> | | |
| Nātrija citrāta dihidrāts | Buferviela | Ph.Eur. |
| Mannīts | Kristalizējošā palīgviela | Ph.Eur. |
| Nātrija hidroksīds | pH regulētājs | Ph.Eur. |
| Ūdens injekcijām | Šķīdinātājs | Ph.Eur. |

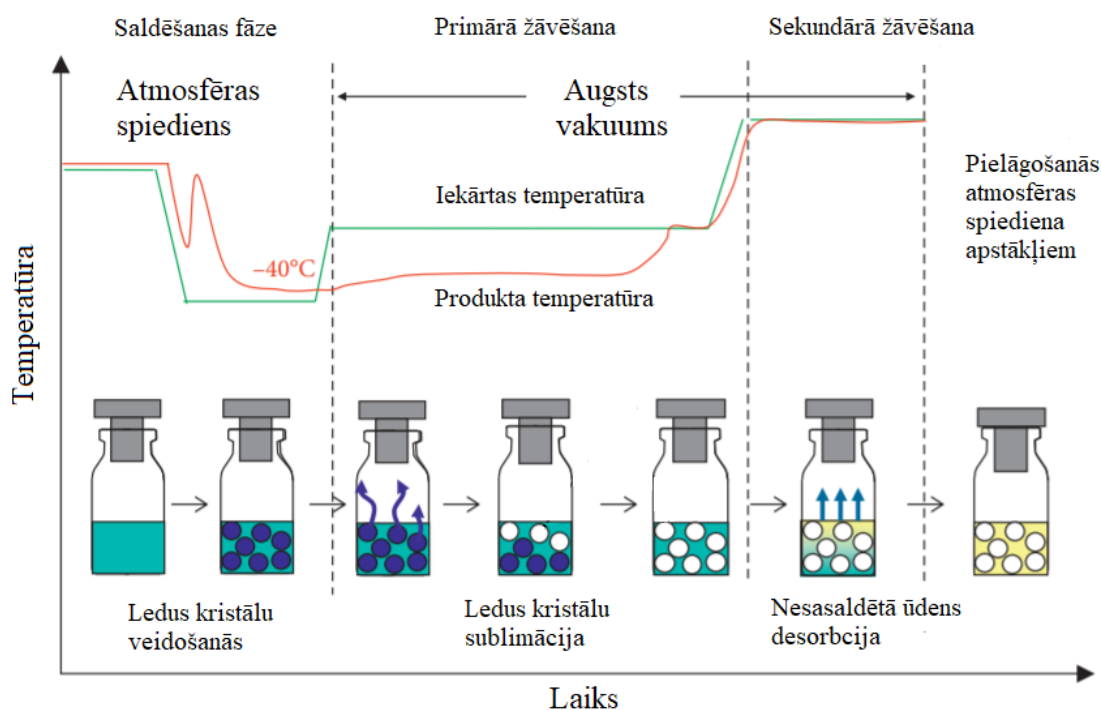
Gatavās zāļu formas pH ir jābūt aptuveni robežās no 9,5 – 11,5 pH regulēšanai tiek pievienots nātrija hidroksīds pH regulēšanai ražošanas laikā. Farmaceutiskajiem produktiem pH kontrole ir svarīga, lai izvairītos no produkta degradācijas ražošanas, glabāšanas, kā arī šķīdināšanas apstākļos. Saistībā ar to, ka pantoprazolam ir nepieciešams liofilizācijas process, galvenokārt tiek izmantotas kristalizējošās palīgvielas, kuras parasti izmanto liofilizētos produktos kā masas palielināšanas līdzekļus un reizēm arī kā stabilizatorus.¹⁴ Mannīts ir visplašāk izmantotākā palīgviela liofilizētos produktos no polioli klases. Tam piemīt augsta eitektiskās kušanas temperatūra pēc kristalizācijas (- 1,4 °C) un liofilizācijas laikā tas labi pārstrādājas.

Visbiežāk izmantotās kristalizējošās palīgvielas liofilizācijas procesam:

- a) Aminokābes (glicīns);
- b) Polioli (mannīts);
- c) Sāļi (nātrija hlorīds).

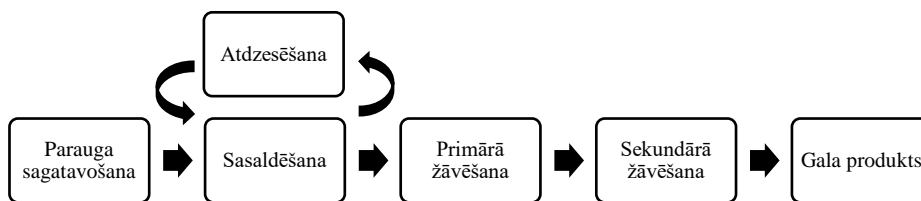
Liofilizētiem produktiem ir nepieciešama aizsardzība pret molekulas noārdīšanos gan sausās sasaldēšanas procesā, gan uzglabāšanas laikā, jo galvenokārt tiek izmantotas tādas palīgvielas, kurām piemīt zema higroskopitāte, zema reaģētspēja, augsta stikla pārejas temperatūra (T_g) un spēja nodrošināt augstu kritisko temperatūru. Kritiskā temperatūra ir noteikta temperatūra, virs kuras liofilizēts produkts zaudē makroskopisko struktūru. Mannīta stikla pārejas temperatūra ir robežā no -28 °C līdz -35 °C .¹⁵

Lai izstrādātu liofilizācijai piemērotu ciklu, sākumā ir jānosaka vielas eitektiskā temperatūra un tad seko vairāku liofilizācijas ciklu analizēšana. Katrs liofilizācijas cikls ietver saldēšanas fāzi, primāro žāvēšanu un sekundāro žāvēšanu (skat. 1.5. attēlu). Lai izstrādātu efektīvāko un piemērotāko ciklu produktam, ir jāveic sākotnēji vairāku ciklu izstrāde, mainot temperatūras, spiedienu, kā arī procesa ilgumu katrā stadijā. Rezultātā primāri izvēlas to ciklu, kurš sniedz produktam vēlamās īpašības, galvenokārt mazāko mitruma saturu. Kad ir izvēlēts produkta liofilizācijas cikls, tad seko analīžu rezultātu savstarpēja salīdzināšana ar references produktu un tālāk produktam tiek veikti stabilitātes pētījumi, saskaņā ar izveidoto specifikāciju pēc ICH vadlīnijām.



1.5. att. Liofilizācijas cikla shēma¹⁶

Saldēšanas laikā ledus kristāli sāk atdalīties, līdz šķīdums kļūst maksimāli koncentrēts un turpmākā dzesēšanas laikā izšķīdušā viela un ledus fāzes atdalās.¹⁹ Liofilizācijas procesa posmus var apskatīt 1.7. attēlā.



1.7.att. Liofilizācijas procesa posmi no parauga sagatavošanas līdz galaprodukta izveidei

Šo procesu izmanto noteiktu farmaceitisko un bioloģisko produktu ražošanai, kuri ir termolabili, vai citādi nestabili ūdens šķīdumos ilgstošai glabāšanai, bet ir stabili sausā stāvoklī.²⁰ Galvenokārt liofilizācija ir paredzēta materiāliem, kuriem ir nepieciešams zems mitruma saturs (mazāk nekā 1 %), lai nodrošinātu stabilitāti un sterilitāti ilgtermiņā.²¹ Ir arī citas tehnoloģijas, kas paredzētas sterila sausā pulvera ražošanai, piemēram, sterilā kristalizācija, tomēr liofilizācija ir visizplatītākais zāļu produktu ražošanas process, kurš ir piemērojams farmaceitiskiem produktiem, kas ir pārāk nestabili, lai tos varētu tirgot kā šķīdumus.²²

1.5.1. Liofilizācijas priekšrocības un trūkumi

Priekšrocības:

1. Vielas, kurām ir tieksme oksidēties ir labi aizsargātas vakuuma apstākļos;
2. Nodrošina ilgu uzglabāšanas laiku, kas saistīts ar ūdens atbrīvošanu no 95 līdz 99,5 %;
3. Aseptiskais process nodrošina mazu piesārņojumu;
4. Minimāls gaistošo vielu zudums;
5. Ātrs parauga sagatavošanas laiks;
6. Žāvētā materiāla sastāvdaļas ir viendabīgi izkliedētas;
7. Var nodrošināt produkta sterilitāti.

Trūkumi:

1. Laikietilpīga;
2. Metode pieprasa augstas ražošanas izmaksas;
3. Stabilitātes problēmas, kuras saistītas ar individuāliem farmaceitiskajiem produktiem.

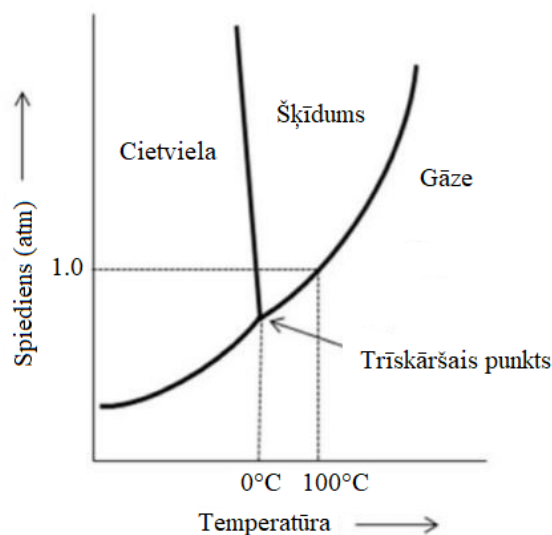
1.5.2. Liofilizācijas process

Liofilizācija ir sarežģīts process, kas pieprasa rūpīgu pieeju produktam, aprīkojumam, kā arī apstrādes paņēmieniem. Jau gandrīz 30 gadus liofilizācija ir plaši izmantota, lai stabilizētu dažādus ķīmiskos komponentus. Šķidrā veidā vairāki bioķīmiskie un ķīmiskie savienojumi ir nestabili, bioloģiski un ķīmiski aktīvi, jutīgi pret temperatūru un piedalās ķīmiskās reakcijās viens ar otru. Šo īpašību dēļ savienojumiem var būt ļoti īss glabāšanas laiks, kā arī tie var degradēties.

Liofilizācija galvenokārt sniedz nestabiliem šķīdumiem ilgu glabāšanas laiku, tos uzglabājot istabas temperatūrā. Process piešķir produktam lieliskas īpašības, tostarp palielina šķīdību, kā arī saglabā dzīvotspēju pret karstuma un mitruma jutīgiem savienojumiem. Lielākā daļa olbaltumvielu procesa laikā nenedaturējas, taču baktēriju augšanu un enzīmu darbību, kas parasti norisinās ūdens preparātos var novērst, kā rezultātā liofilizācija nodrošina maksimālu bioloģiskās un ķīmiskās tīrības saglabāšanu.²³

Žāvēšanu ar saldēšanas metodi galvenokārt izmanto, lai no jutīgiem, visbiežāk bioloģiskas izcelsmes produktiem atbrīvotu ūdeni, tos nesabojājot. Šis process dod iespēju ne tikai produktus ilgstoši uzglabāt, bet arī atjaunināt, ja ir nepieciešams pievienot ūdeni.²⁴

Liofilizācijas procesā sākotnēji produkts tiek sasaldēts atmosfēras spiedienā un pēc tam seko pirmā fāze, ko dēvē par primāro žāvēšanu, kur ūdeni (cietā agregātstāvoklī) noņem ar sublimāciju, taču otrajā fāzē, ko sauc par sekundāro žāvēšanu, to noņem desorbcijas ceļā. Žāvēšanu veic vakuumā. Liofilizācijas procesa pamatprincipu var attēlot ar shēmu 1.8. attēlā.²⁵



1.8.att. Liofilizācijas jeb žāvēšanas (izsaldējot) process²⁶

Iepriekšējā apstrāde ietver jebkuru metodi produkta apstrādei pirms izsaldēšanas, proti tā var būt produkta koncentrēšana, šķīdinātāja samazināšana, virsmas laukuma palielināšana, kā arī sastāvdaļu pievienošana, lai palielinātu stabilitāti un uzlabotu apstrādi. Daudzos gadījumos lēmums par produkta pirmapstrādi balstās uz teorētiskām zināšanām vai zinātniskajām publikācijām, vai arī to pieprasa cikla laiks un produkta kvalitātes apsvērumi.²⁷

1.5.3. Liofilizēto produktu stabilitāte

Vairāki faktori var ietekmēt liofilizētā materiāla stabilitāti. Divi no vissvarīgākajiem faktoriem ir mitrums un skābeklis. Visiem produktiem pēc liofilizācijas procesa paliek neliels mitruma daudzums, ko sauc par atlikušo mitrumu. Materiāla atlikušā mitruma daudzums ir atkarīgs no produkta dabas un sekundārā žāvēšanas ilguma. Atlikušo mitrumu paraugā var noteikt ar vairākām metodēm, tostarp hromatogrāfiju, manometriju vai gravimetriju. Šo parametru izsaka masas procentos no kopējā žāvētā produkta masas, un tā vērtība lielākajai daļai produktu ir robežās no < 1 līdz 3 %.

Materiāli, kuri ir žāvēti izsaldējot, ir higroskopiski un mitruma iedarbība to uzglabāšanas laikā var destabilizēt produktu. Iepakojumiem, ko izmanto sasaldētiem materiāliem, ir jābūt atmosfēras mitruma necaurlaidīgiem, kā arī produktu uzglabāšana videi būtu nepieciešams piemērot zemu mitruma līmeni, lai pēc iespējas vairāk samazinātu risku produkta degradācijai.

Produkta saskare ar gaisu var ietekmēt arī tā stabilitāti, tāpēc būtu nepieciešams izmantot gaisa necaurlaidīgu iepakojumu. Gaisa un mitruma ietekme uz produktu ir atkarīga no temperatūras. Jo augstāka ir uzglabāšanas temperatūra, jo ātrāk produkts noārdās. Lielāko daļu liofilizētu produktu var turēt ledusskapī temperatūrā no 4 līdz 8 °C, taču produktu glabāšana vēl zemākā temperatūrā spēj pagarināt to glabāšanas laiku. Izmērot produkta sadalīšanās ātrumu paaugstinātā temperatūrā var paredzēt liofilizēta produkta glabāšanas laiku. To sauc par paātrinātu uzglabāšanu. Izvēloties pareizas laika un temperatūras attiecības paaugstinātā temperatūrā, zemākā uzglabāšanas temperatūrā var paredzēt produkta noārdīšanās ātrumu.

1.6. Šķidrums hromatogrāfijas nozīme farmācijas nozarē

Farmācijas nozarē saražotajiem produktiem ir jābūt visaugstākās kvalitātes, lai nodrošinātu mazāko risku pacientam. Lai garantētu farmācijas produktu atbilstību noteiktiem kritērijiem, pētnieki un ražotāji izstrādes procesā izmanto dažādas tehniskās iekārtas un analītiskos paņēmienus, tostarp šķidrums hromatogrāfiju.

Šķidrums hromatogrāfija ir analītiska metode, kuru plaši izmanto, lai atdalītu noteiktu paraugu tā individuālos komponentos. Atdalīšanās process norisinās, kad paraugs mijiedarbojas ar mobilo (šķidrums) un stacionāro fāzi (kolonnu). Dažādas parauga daļas tiek atdalītas, pamatojoties uz to polaritāti, kā rezultātā rodas atšķirīgs afinitātes līmenis mobilajai fāzei un migrācija caur kolonnu norit dažādos ātrumos.

Jauktie komponenti ir novietoti stacionārās fāzes kolonnas augšdaļā, kas galvenokārt ir smalka, adsorbējoša cieta viela, piemēram, silīcija dioksīds. Tam jābūt vienmērīgi sadalītam, lai samazinātu gaisa burbuļu klātbūtni, kas varētu ietekmēt testa rezultātus. Kolonnas izeja ir aizbāzta ar stiklu, vilnu vai porainu plāksni. Kad kustīgā fāze iet cauri kolonnai, vielu maisījums sadalās komponentos. Pēc tam šos komponentus var savākt un analizēt, izmantojot citas metodes.²⁸ Kolonnas hromatogrāfiskajai sistēmai parasti izvēlas ar augstu hidrofobitāti un zemu silanola aktivitāti.

Šāds metodes princips efektīvi darbojas, jo maisījuma komponentus dažādās pakāpēs piesaista stacionārās fāzes adsorbējošā virsma atkarībā no to individuālās polaritātes un unikālajām strukturālajām īpašībām. Komponenti ar augstāku afinitāti pret stacionāro fāzi migrē uz kolonnu lēnāk nekā komponenti, kuram ir augstāka afinitāte pret mobilo fāzi.

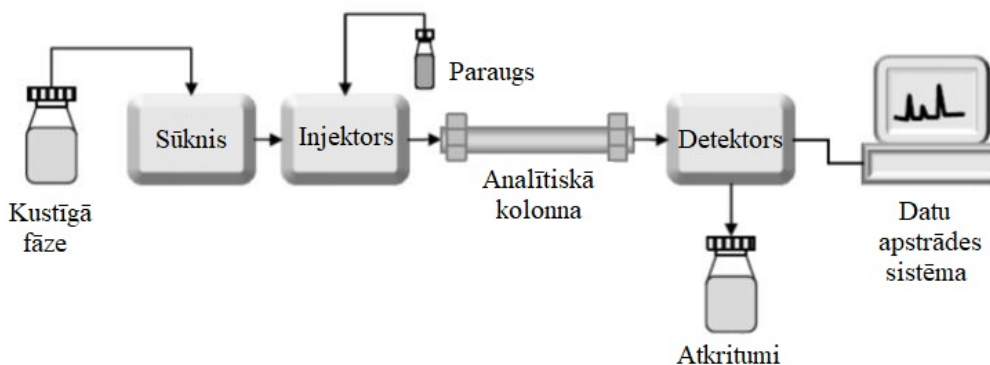
Mūsdienās visizplatītākais šķidrums hromatogrāfijas veids ir augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija (HPLC), kas parauga maisījumu sūknē caur kolonnu augstā spiedienā. HPLC

ir šķidrums hromatogrāfijas veids, ko visbiežāk izmanto arī farmācijas nozarē, jo tā var nodrošināt precīzus rezultātus analītiskajos mērījumos. Rezultātus var izmantot, lai ražošanas procesā kvantitatīvi un kvalitatīvi analizētu gatavos medikamentus un to sastāvdaļas. To panāk, atdalot, kvantificējot un identificējot komponentus maisījumā, un to var izmantot, lai atklātu zāļu identitāti un uzraudzītu slimības terapijas gaitu.²⁹

Galvenokārt HPLC priekšrocības ir vielas tīrības pārbaude, tehnoloģisko iekārtu tīrības kontrole, vielas struktūras identificēšana, kā arī kvantitatīvā satura un piemaisījumu daudzumu noteikšana farmaceitiskajā preparātā.³⁰ HPLC ir ne tikai īpaši piemērota savienojumiem, kas nav viegli gaistoši un termiski nestabili, bet arī savienojumiem, kuriem piemīt liela molekulmasa. Lai gan ir daudz pozitīvu īpašību šai metodei, tomēr ir arī trūkumi, kā, piemēram, kalibrēšanas testu veikšana, kas var palielināt izmaksas.

Tā kā HPLC ir vienkārša, specifiska, ātra un precīza metode, to var veiksmīgi un efektīvi pielāgot rutīnas kvalitātes kontroles analīzēm farmaceitiskajiem produktiem. To var izmantot arī kombinācijā ar citām analīzes metodēm, tostarp HPLC/MS, lai dotu plašāku informāciju par maisījuma komponentiem.

HPLC iekārta sastāv no vairākiem svarīgiem posmiem, tostarp rezervuāra, kas satur kustīgo fāzi, kā arī augsta spiediena sūkņa, kas nodrošina tās vienmērīgu plūsmu. Ar injektora palīdzību paraugs tiek ievadīts nepārtraukti plūstošajā kustīgajā fāzē, kas attiecīgi paraugu nogādā analītiskajā kolonnā, kur norisinās vielu maisījuma sadalīšanās process. Detektors ir nepieciešams, lai identificētu sadalīto komponentu klātbūtni analītiskajā kolonnā. Turpmākajā procesā līdz datu apstrādes sistēmai nonāk maisījuma komponenti, kurus detektors ir spējis detektēt, plūstot kustīgajai fāzei caur kolonnu. Datu apstrādes sistēmā tiek reģistrēts signāls un apstrādāts elektroniskā veidā un attiecīgi atkritumos nonāk izlietotā kustīgā fāze, kas ir izgājusi cauri sistēmai.³¹ Shematisku HPLC iekārtas uzbūves shēmu var apskatīt 1.9. attēlā.

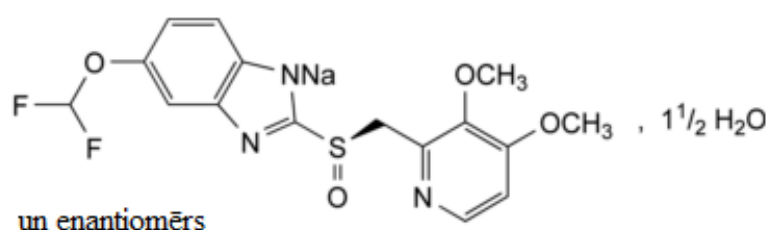


1.9.att. Shematiska HPLC iekārtas uzbūves shēma

1.7. Analītisko metožu izstrāde

1.7.1. Aktīvās vielas raksturojums un analīžu metodes

Pantoprazola gatavā zāļu forma satur aktīvu vielu (baltu vai gandrīz baltu, kristālisku pulveri) – pantoprazola nātrija seskvihidrātu, pēc IUPAC nātrija 5-(difluormetoksi)-2-[(RS)-[(3,4-dimetoksipiridīn-2-il)metil]sulfinil]benzimidazol-1-īda seskvihidrātu (skat. 1.10. att.). Aktīvā viela viegli šķīst ūdenī, etanolā (96%), kā arī metanolā, taču praktiski nešķīst heksānā un dietilēterī.³² Aktīvās vielas šķīdība vairākos šķīdinātājos ir apkopota 1.2. tabulā.



1.10.att. Pantoprazola nātrija seskvihidrāta molekulārā struktūra

1.2. tabula

AFV šķīdība vairākos šķīdinātājos³³

| Šķīdinātājs | Izšķīdušais daudzums pie 25 °C, mg/mL |
|-------------------|--|
| Metanols | > 2000 |
| Ūdens | > 1000 |
| Etanols | > 1000 |
| Acetons | 270 |
| Hloroforms | 0,022 |
| Dihlormetāns | 0,018 |
| Dietilēteris | 0,001 |
| <i>n</i> -Heksāns | 0,001 |

Pēc Eiropas Farmakopejas monogrāfijas No.2296 pantoprazola nātrija seskvihidrāta identitāti nosaka, izmantojot:

1. Infrasarkanās absorbcijas spektrofotometriju *Ph.Eur.* 2.2.24;
2. Kvalitatīvā pierādīšanas reakcija ar nātriju *Ph.Eur.* 2.3.1.

Aktīvi farmaceitiskajai vielai kvantitatīvo saturu nosaka ar potenciometrisko titrēšanu, taču piemaisījumus ar augsti efektīvās šķīduma hromatogrāfijas metodes palīdzību *Ph.Eur.* 2.2.29, izmantojot sekojošos parametrus:

1. Plūsmas ātrums: 1,0 mL/min;
2. Detektēšana: spektrofotometrs pie 290 nm;
3. Injekcijas tilpums: 20,0 µL;
4. Kustīgā fāze A: 1,74 g/L kālija hidrogēnfosfāta šķīdums pielāgots pH 7,00 ± 0,05 ar 330 g/L fosforskābes šķīduma palīdzību;
5. Kustīgā fāze B: acetonitrils;
6. Kolonna (C 18) ar diametru 4,0 mm un garumu 125 mm. Stacionārā fāze (silika gēls): 5 µm. (Kolonnas temperatūra: 40 °C) [17].
7. Gradients:

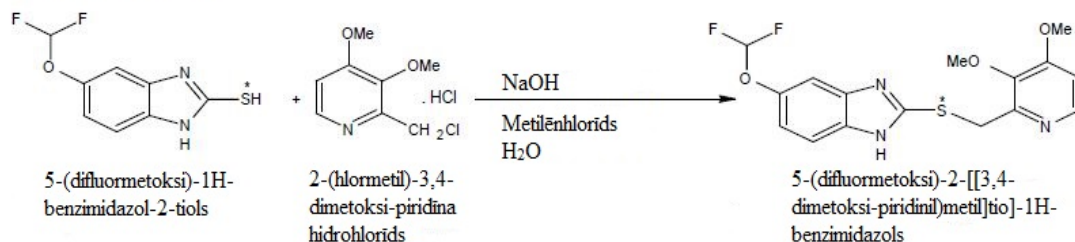
| Laiks, min | Kustīgā fāze A, % | Kustīgā fāze B, % |
|------------|-------------------|-------------------|
| 0 – 40 | 80 → 20 | 20 → 80 |
| 40 -45 | 20 → 80 | 80 → 20 |

AFV jeb pantoprazola nātrija seskvihidrātu iegūst sintēzes ceļā, kondensējot 5-difluormetoksi-1H-benzimidazol-2-tiolu ar 2-hlormetil-3,4-dimetoksi-piridīna hidrohlorīdu, iegūstot tioēteri, kas pēc tam attiecīgi tiek oksidēts līdz gatavam produktam (skat. 1.11.attēlu). Galvenokārt sintēzes gaitā kā oksidējošo reaģentu izmanto nātrija hipohlorītu tā zemo izmaksu un komerciālās pieejamības dēļ. Lai veicinātu tioēteru pārveidošanos par sulfoksīdiem, tiek izmantoti arī citi oksidējošie reaģenti, tostarp ūdeņraža peroksīds ar metāla oksīda katalizatoriem, peroksiskābes un N-bromsukcinamīds.³⁴ Lai iegūtu neapstrādātu nātrija pantoprazola seskvihidrātu, pantoprazols reaģē ar nātrija hidroksīda pārslām. Neapstrādāto pantoprazola nātrija seskvihidrātu attīra ar etilspirtu, DIPE (izopropilēteri) un ūdeni, lai iegūtu tīru vielu.

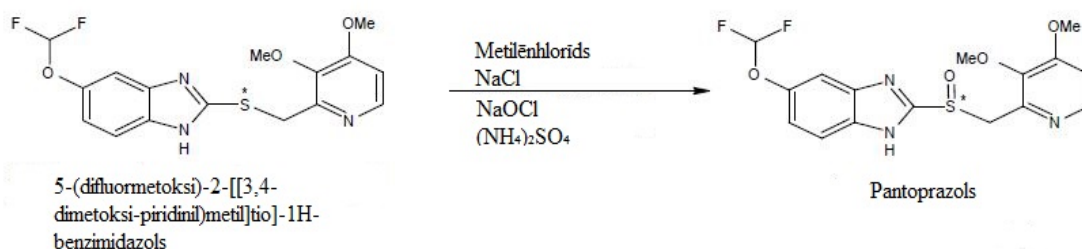
Mitrais pantoprazola nātrija seskvihidrāts tiek pakļauts fizikālām darbībām, tostarp žāvēšanai, malšanai un pulverizēšanai, sijāšana, lai iegūtu pantoprazola nātrija seskvihidrātu (sausu), kam seko attiecīgi vielas iesaiņošana.³⁵

Būtībā pantoprazola nātrija seskvihidrāta ražošanas metožu izstrāde ir balstīta uz precīzas hidrāta formas iegūšanu. Lai par to pārliecinātos, izmanto piemērotas analīžu metodes, kas parāda seskvihidrāta īpašības, piemēram, infrasarkano spektroskopiju *Ph.Eur.* 2.2.40 vai pulvera rentgendifraktometriju *Ph.Eur.* 2.9.33, saskaņā ar Eiropas Farmakopeju.

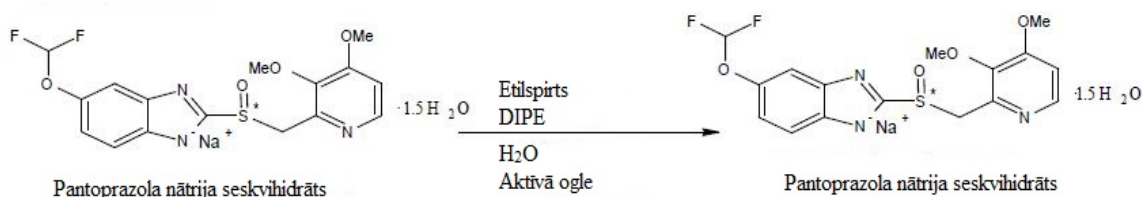
1.posms - Kondensācija



2.posms - Oksidēšana un sāls veidošana



3.posms - Attīrīšana



1.11.att. Pantoprazola nātrija seskvihidrāta sintēze

Farmakopejas metodes nepārtraukti tiek aktualizētas, attīstot un uzlabojot metožu jutību un atkārtojamību. Aktīvās vielas analītiskās metodes, kuras aprakstītas Eiropas farmakopejas monogrāfijā ir apstiprinātas ar EDQM, taču jāņem vērā, ka atsevišķām metodēm ir

nepieciešama validācija, lai novērtētu dažādus faktoros, tostarp “sliktākā gadījuma” (*worst-case*) riskus, kā arī novirzes ražošanas procesa laikā.³⁶ Validācijas pētījumus veic ne tikai analīžu metodēm, bet arī iekārtām un iekārtu sistēmām. Validācija tiek pielietota arī ražošanas procesiem, tostarp tīrīšanai, sterilizācijai, primārā iepakojuma pildīšanai, liofilizācijai, utt. Liofilizatoram būs nepieciešamas atsevišķas validācijas, jo ražošanas procesa laikā tas darbojas gan kā iekārta liofilizācijas procesam, gan laboratorijas trauku tīrīšanai, kā arī liofilizators ir nepieciešams sterilizācijas procesam un sterilitātes testam. Validācijas pētījumi ir nepieciešami, lai katrs produkta ražošanas procesa posms darbojas pareizi un tiek kontrolēts pēc visiem parametriem. Gadījumā, ja tiek veiktas modifikācijas vai rodas novirzes, vai aprīkojums tiek nomainīts, tiek veikta atkārtota pārbaude.³⁷

1.7.2. Gatavās zāļu formas analīžu metodes

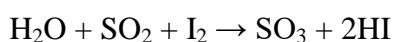
Pantoprazols tiek izstrādāts kā ģenēriķis, tāpēc analītisko metožu izstrāde galvenokārt ir balstīta uz oriģinālā jeb references produkta Nolpaza 40 mg izpēti. Zāļu tirgū ir sastopami gan oriģinālie medikamenti, gan ģenēriskie medikamenti. Ģenēriskais medikaments (jeb saukts vienkārši — *ģenēriķis*) ir tāds medikaments, kas visās zāļu īpašībās — aktīvā viela, deva, iedarbības stiprums, zāļu forma, ārstējamā slimība — ir līdzvērtīgs (jeb *bioekvivalents*) oriģinālajam medikamentam. Ņemot vērā šo faktu, ģenēriskās zāles ir tikpat efektīvas, kā oriģinālie preparāti.

Mūsdienās ģenēriskām zālēm ir arvien nozīmīgāka loma veselības aprūpes sistēmā, jo tās nodrošina veselības aprūpes speciālistiem pieejamāku alternatīvu noteiktiem preparātiem.³⁸ Ģenēriķi ir pierādīti terapeitiski līdzvērtīgi attiecīgajiem references produktiem, kā rezultātā tos var aizstāt klīniskajā praksē. To ražošana atbilst tādiem pašiem kvalitātes standartiem, kādi tiek piemēroti oriģinālajām zālēm, ieskaitot LRP ievērošanu ražošanas procesos.³⁹ Atsaucoties uz Zāļu valsts aģentūras datiem par 2016. gadu Latvijā⁴⁰, ģenēriskās zāles tiek pārdotas apmēram 2 reizes vairāk, salīdzinot ar oriģinālajiem preparātiem, jo to galvenā priekšrocība ir ievērojami zemāka cena nekā pašu zāļu oriģināliem.

Lai veiksmīgi izstrādātu ģenēriķi, ir nepieciešams, pirmkārt, apkopot informāciju par aktīvo vielu, ietverot fizikālās un ķīmiskās īpašības, kā arī kritiskās kvalitātes īpašības. Otrkārt, izstrādes attīstības posms bieži vien sākas ar rūpīgu oriģinālā produkta raksturojumu, kam seko savietojamības pētījums piedāvātajai substancei kopā ar palīgvielām, lai iegūtu formulāciju, kuru varētu piemērot ražošanas procesam.⁴¹

Tādi parametri kā šķīduma raksturojums, pH un produkta apraksts ir iekļauti produkta specifikācijā un to limiti vai prasības tiks norādīti ne tikai pēc analīzēm laboratorijā vai vizuālā redzējuma, bet arī balstoties uz references produkta īpašībām.

Saskaņā ar ICH (Q6A) vadlīniju (*Test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances*)⁴² ir norādīts, ka gatavajam produktam, kuram zāļu forma ir uz pulvera bāzes, specifikācijā ir noteikti jāiekļauj ūdens saturs noteikšana, kā arī devas viendabīgums. Balstoties uz aktīvi farmaceitiskās vielas monogrāfiju, ūdens saturu paraugā var noteikt ar Karla Fišera titrēšanu, izmantojot sēra dioksīda oksidēšanu ar jodu:



Kā citu alternatīvu ūdens noteikšanai farmaceitiskajā paraugā var pielietot termogravimetrijas metodi, kur mitruma saturs noteikšanu definē kā masas zudumu, kas rodas, karsējot materiālu. Parauga masa tiek fiksēta pirms karsēšanas un līdzsvara stāvokļa sasniegšanas brīdī pēc žāvēšanas.⁴³ Publikācija⁴⁴ vēsta, ka ir izstrādāta ātra, precīza, kā arī daudzpusīga analītiskā metode ūdens noteikšanai un kvantificēšanai analītiskajā paraugā. Tvaika fāzes gāzu hromatogrāfijas (HSGC) metodei jutīguma palielināšanai izmanto uz jonu šķīduma bāzes atvērtu cauruļveida kapilāro GC kolonnu. Jonu šķīdumus izmantoto arī kā tvaika fāzes šķīdinātājus to zemā tvaika spiediena dēļ, unikālajām fizikāli ķīmiskajām īpašībām un augstās termiskās stabilitātes. Šo metodi neietekmē blakus reakcijas, kā arī ar šķīdību saistītas problēmas, kas savukārt ir attiecināmas uz Karla Fišera titrēšanas metodēm.⁴⁵

Izstrādājot jaunu farmaceitisko produktu, specifikācijā ir noteikti jāiekļauj kvantitatīvā saturs, identitātes un piemaisījumu noteikšana, kā arī bakteriālo endotoksīnu, mikrobioloģiskā piesārņojuma un sterilitātes testu veikšana, atsaucoties uz ICH (Q6A) vadlīniju.⁴²

Saskaņā ar vadlīniju identitātes testiem ir jābūt specifiskiem attiecībā uz jauno farmaceitisko produktu, kā rezultātā bez izdalīšanās laika noteikšanas hromatogrāfiski tiks papildus izmantota UV spektrometrija darba eksperimentālajā daļā.

Piemaisījumu klātbūtne gatavai zāļu formai var būtiski ietekmēt zāļu kvalitāti un drošību. Prasības piemaisījumu pārbaudei kļūst arvien sarežģītākas, jo iespējamo piemaisījumu avoti var būt ļoti daudz, tostarp AFV sintēzes laikā radušies piemaisījumi, uzglabāšanas apstākļi (temperatūras, gaismas ietekme uz produktu), reakcija ar iepakojuma materiāliem, utt. Izvērtējot vairākas zinātniskās publikācijas, var secināt, ka gatavajam

produktam ir gaidāma degradācija skābā vidē, jo šāda īpašība piemīt savienojumiem, kas pieder pie protona sūkņu inhibitoriem.⁴⁶

Balstoties uz apkopotajiem literatūras datiem, kā arī AFV farmakopejas piemaisījumu noteikšanas metodi, tika izstrādāta analītiskā metode gatavai zāļu formai, kas ir liofilizēts pulveris injekciju šķīduma pagatavošanai.

Izvēloties par pamatu AFV monogrāfiju, tika izmainīti vairāki parametri, lai piemērotu šo metodi gatavai zāļu formai, tostarp hromatogrāfiskā kolonna, gradienta apstākļi, salīdzināšanas šķīdums (a), salīdzināšanas šķīdums (b) un sistēmas piemērotības šķīdums.

Metodei tika izvēlēta kolonna ar lielāku diametru un garumu, respektīvi no 125 x 4,0 mm uz 150 x 4,6 mm, jo šādi kolonnas hromatogrāfiskie izmēri ir plašāk izmantoti un komerciāli pieejamāki hromatogrāfiskajā praksē. Rezultātā pamatsmailes izdalīšanās laiks ir vēlāks.

Izmantotie gradienta apstākļi AFV monogrāfijā ir uzlaboti, lai dotu iespēju labāk noteikt esošos piemaisījumus gatavajā zāļu formā. Veicot eksperimentālos pētījumus piemaisījumu noteikšanai, tika konstatēts, ka piemaisījumus A¹, C², D+F³, E⁴ var detektēt, kad hromatogrāfiskajā sistēmā dominē ūdens fāze, savukārt piemaisījumu B⁵ var detektēt, kad organiskā fāze ir palielināta kustīgās fāzes sastāvā, aptuveni pie 35 min. Pastāv divu veidu kustīgās fāzes plūsmas režīmi. Tā kā gatavajam produktam plūsmas laikā ir mainīts sastāvs kustīgajai fāzei, režīms attiecīgi ir nodēvēts par gradientu. Citā praksē var pielietot arī izokrātisko režīmu, kur kustīgā fāze plūst nepārtraukti hromatogrāfiskajā sistēmā.

Salīdzināšanas šķīdumu (a) un (b) sagatavošana tika izstrādāta, balstoties uz ICH Q3B (R2) *Impurities in new drug products* vadlīnijas 1. pielikumu *Thresholds for Degradation Products in New Drug Products*.⁴⁷ Saskaņā ar references produkta SmPC, maksimālā dienas deva pacientam ir 160 mg pantoprazole.⁴⁸ Vadoties pēc apkopotās informācijas, var aprēķināt ikviena nezināmā degradācijas produkta pieļaujamo robežlielumu gatavajā produktā, kas attiecīgi ir 0,2 %. Kā rezultātā, mainītā salīdzināšanas šķīduma (a) koncentrācija atbilst maksimālajam pieļaujamam piemaisījumu daudzumam analizējamā šķīdumā, tādējādi

¹ 5-(difluormetoksi-2-[(3,4-dimetoksipiridīn-2-il)metil]sulfinil]-1H-benzimidazols;

² 5-(difluormetoksi)-1H-benzimidazol-2-tiols;

³ Piemaisījums D: 5-(difluormetoksi)-2-[(RS)-[(3,4-dimetoksipiridīn-2-il)metil]sulfinil]-1-metil-1H benzimidazols,
Piemaisījums F: 6-(difluormetoksi)-2-[(RS)-[(3,4-dimetoksipiridīn-2-il)metil]sulfinil]-1-metil-1H benzimidazols;

⁴ 6,6'-bis(difluormetoksi)-2,2'-bis[[3,4-dimetoksipiridīn-2-il)metil]sulfinil]-1H,1'H-5,5'-bibenzimidazola stereoizomēru maisījums;

⁵ 6-(difluormetoksi)-2-[[[(3,4-dimetoksi-1-oksido-2-piridinil)metil]sulfinil]-1H-benzimidazols (pantoprazola-N-oksīds).

nodrošinot salīdzināšanas šķīduma un testējamā šķīduma tuvākas smaiļu laukuma attiecības, atsaucoties uz izmantoto aprēķinu formulu, kur piemaisījuma daudzums tiek noteikts pret aktīvo vielu. Šī ir vispārīgi pieņemta un labi zināma prakse farmaceitiskajā nozarē.

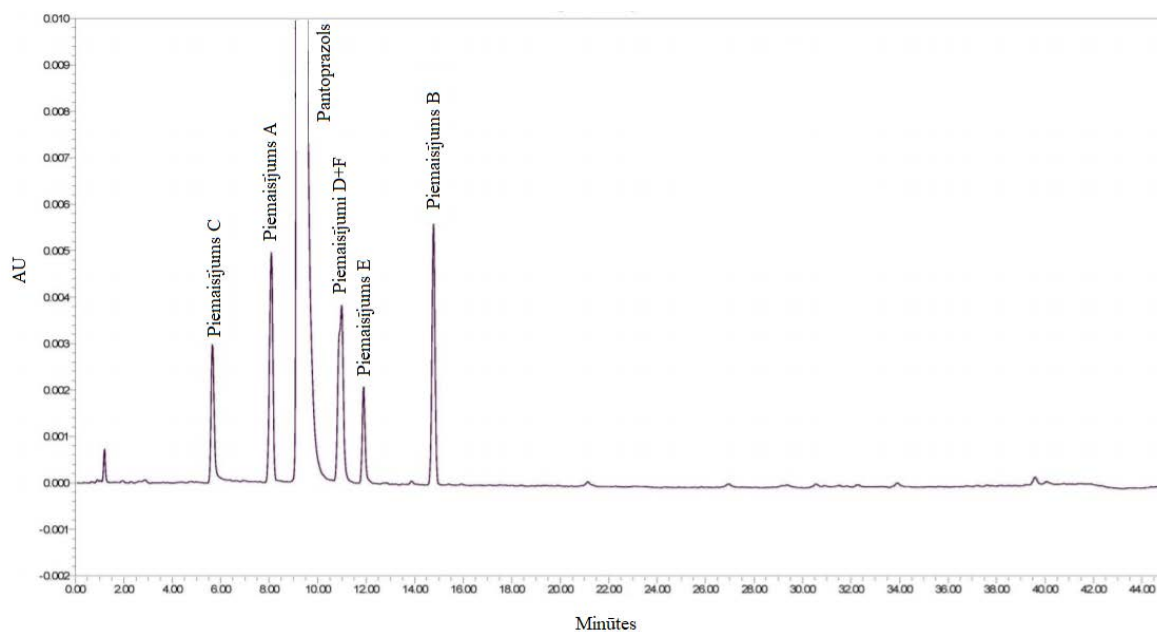
Analogi tika piemērota koncentrācija salīdzināšanas šķīdumam (b). Tā kā maksimālā dienas deva pacientam ir ≤ 1 g, iegūst atmetamo robežu ar koncentrāciju 0,1 %, no kuras ir nepieciešams kvantificēt piemaisījumus. Iepriekš minētos degradācijas produktu robežlielumus gatavajā zāļu formā var apskatīt 1.3. tabulā, kas ir saskaņā ar ICH Q3B (R2) vadlīniju.

1.3. tabula

Degradācijas produktu robežlielumi gatavajā zāļu formā

| Ziņojošie robežlielumi | |
|-------------------------------------|---|
| Maksimālā dienas deva | Robežlielums |
| ≤ 1 g | 0,1 % |
| > 1 g | 0,05 % |
| Identifikācijas robežlielumi | |
| Maksimālā dienas deva | Robežlielums |
| < 1 mg | 1,0 % vai 5 μ g TDI, izvēlas zemāko vērtību |
| 1 mg – 10 mg | 0,5 % vai 20 μ g TDI, izvēlas zemāko vērtību |
| > 10 mg – 2 g | 0,2 % vai 2 mg TDI, izvēlas zemāko vērtību |
| > 2 g | 0,10 % |

Lai novērtētu izvēlētajās hromatogrāfiskās sistēmas piemērotību, attiecībā uz piemaisījumu savstarpējo atdalīšanos hromatogrāfiskajā kolonnā, pirms rutīnas analīžu veikšanas ir izvēlēts sistēmas piemērotības šķīdums, kura pagatavošanai tiek izmantots primārais standarts *Pantoprazole for System Suitability CRS*. Sistēmas piemērotības šķīduma hromatogramma ir redzama 1.12.attēlā. Šajā hromatogrammā var novērtēt zināmo piemaisījumu izdalīšanās secību.



1.12.att. Primārā standarta *Pantoprazole for System Suitability CRS* hromatogramma⁴⁹

Gatavā produkta piemaisījumu metodei ir papildus pievienota Placebo šķīduma pagatavošana no gatavā produkta palīgvielām, lai iegūtu informāciju par fona līmeni. Šķīdums ir pagatavots no palīgvielu maisījuma, ietverot mannitolu un nātrija citrāta dihidrātu, piemērojot tādu pašu koncentrāciju kā testa šķīdumam. Hromatogrāfisko rezultātu apstrādes laikā iegūtā placebo šķīduma hromatogramma tiek pārklāta ar testa šķīduma hromatogrammu, tādējādi izlīdzinot fona līmeni, ko varētu ienest formulācijā izmantotās palīgvielas. AFV monogrāfija ir attiecināma uz aktīvo substanci, savukārt izstrādātā metode ir piemērojama gatavajam produktam, kura sastāvā ir arī palīgvielas, līdz ar to AFV monogrāfijā placebo šķīduma pagatavošana netiek aprakstīta.

Kvantitatīvā satura noteikšanas metode ir izstrādāta, modificējot uzlaboto piemaisījumu noteikšanas metodi, jo AFV monogrāfijā kvantitatīvo saturu nosaka ar potenciometrisku titrēšanu, kas nav tik piemērota kvalitātes kontrolei rutīnas praksē, salīdzinot ar HPLC. Arī publikācijā⁵⁰ ir vēstīts, ka HPLC metode ir ātra, vienkārša, nepieciešami mazi paraugu daudzumi un to var veiksmīgi piemērot kvalitātes kontroles analīzēm, ja mērķis ir kvantitatīvi noteikt un identificēt aktīvo vielu farmaceitiskajā produktā. Potenciometriskās titrēšanas metodes galvenais trūkums ir lielāki laika resursi analīžu veikšanai, kamēr, izmantojot HPLC vienā sekvencē, var apvienot vairākas sērijas un analīzes atstāt uz nakti, pašam analītiķim nepiedaloties analīzes gaitā.

Galvenie parametri, kuri tika izmainīti kvantitatīvā satura noteikšanā, ir gradienta apstākļi un testa šķīduma koncentrācija. Tā kā nepieciešamais analīzes laiks ir daudz mazāks pamatsmailes kvantificēšanai, gradienta apstākļi ir attiecīgi pielāgoti mazākam analīzes laikam, paātrinot ūdens fāzes pāreju uz organisko fāzi. Līdzīgi ir ar testa šķīdumu, tā kā pamatsmaile ir lielākā smaile hromatogrammā, tās kvantificēšanai nav nepieciešama tik liela testa šķīduma koncentrācija kā piemaisījumu noteikšanas metodē, kā rezultātā analīzei ir piemērota aptuveni 10 reizes mazāka testa šķīduma koncentrācija.

Kvantitatīvā satura noteikšanas analīzei salīdzināšanas šķīduma vai standartšķīdums tiek pagatavots tādā pašā koncentrācijā kā testa šķīdums, tādējādi nodrošinot vienādas savstarpējas smaļu laukumu attiecības, kas tiek atspoguļots attiecīgajā kvantitatīvā satura aprēķinu formulā. Standartšķīduma pagatavošanā ir svarīgi ņemt vērā standartvielas tīrību, aktīvās vielas sāls formu un hidratu saturu, kā rezultātā standartvielas iesvaru pietuvinot testa šķīduma koncentrācijai.

Tā kā AFV smaile un piemaisījumu smailes ir kvantificējamās atšķirīgos koncentrāciju līmeņos, atšķirīgas ir arī sistēmas piemērotības prasības. Saskaņā ar 2.2.46 *Chromatographic separation techniques*⁵¹, kā sistēmas piemērotības parametri ir izvēlēti – pamatsmailes simetrijas faktors, relatīvā standartnovirze starp dūrieniem un teorētiskais šķīvju skaits pamatsmailei. Galvenokārt, ja monogrāfijā nav norādīts citādāk, simetrijas faktors tiek izvēlēts robežās no 0,8 – 1,5. Maksimālā pieļaujamā relatīvā standartnovirze nepārsniedz 1.4. tabulā norādītās vērtības. Relatīvā standartnovirze pantoprazola kvantitatīvā satura noteikšanai nedrīkst pārsniegt 2,0 %.

1.4. tabula

Maksimāli pieļaujamās standartnoviržu normas

| | Individuālo injekciju skaits | | | |
|--|---|------|------|------|
| | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Robeža, kas norādīta individuālās monogrāfijas definīcijā, atņemot 100 procentus (%) | Maksimāli pieļaujamā relatīvā standartnovirze | | | |
| 2,0 | 0,41 | 0,59 | 0,73 | 0,85 |
| 2,5 | 0,52 | 0,74 | 0,92 | 1,06 |
| 3,0 | 0,62 | 0,89 | 1,10 | 1,27 |

Sistēmas piemērotībai ir nepieciešams arī novērtēt šķīvju skaitu, lai varētu raksturot kolonnas efektivitāti. Saskaņā ar FDA vadlīnijas rekomendāciju, teorētisko šķīvju skaits nedrīkst būt zemāks par 2000. Šķīvju skaitu ietekmē gan kolonna, gan kolonnas temperatūra,

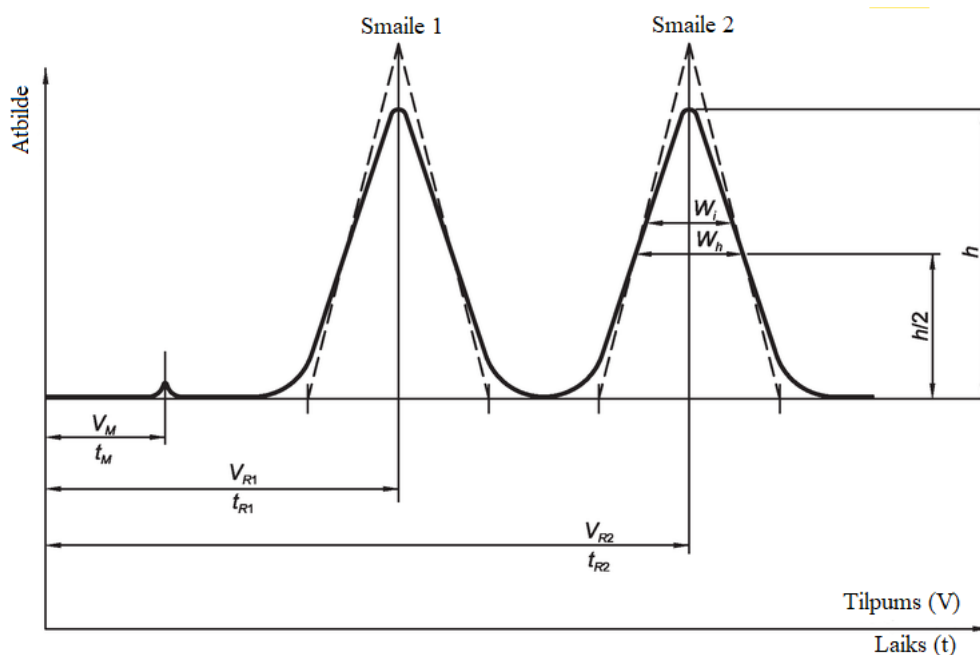
gan kustīgā fāzē, kā arī izdalīšanās laiks. Saskaņā ar Ph.Eur šķīvju skaitu aprēķina pēc sekojoša vienādojuma (1.1. vienādojums) un apzīmējumu skaidrojums ir attēlots 1.13. attēlā –

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_h} \right)^2, \quad (1.1)$$

N – teorētisko šķīvju skaits;

t_R – pamatsmailes izdalīšanās laiks;

W_h – smailes platums pa vidu no smailes augstuma.



1.13.att. Svarīgāko raksturlielumu attēlojums hromatogrammā

Atbilstība sistēmas piemērotības kritērijiem ir nepieciešama visā hromatogrāfijas procedūras laikā. Atkarībā no dažādiem faktoriem, piemēram, procedūras izmantošanas biežuma un pieredzes ar hromatogrāfijas sistēmu, analītiķis izvēlas piemērotu pārbaudes shēmu, lai to uzraudzītu.

1.7.3. Analītisko metožu salīdzinājums

Pantoprazola gatavā zāļu forma ir pieejama ne tikai liofilizēta pulvera veidā, bet arī tabletēs, kā rezultātā tiek piedāvātas vairākas analītiskas noteikšanas metodes galvenokārt palīgvielu sastāva izmaiņu dēļ. Publikācijās ir aprakstītas analītiskās noteikšanas metodes gan bioloģiskajos šķīdumos, gan gatavajās zāļu formās, ietverot augsti efektīvās šķīduma

hromatogrāfijas masspektrometriju (HPLC/MS), apgrieztās fāzes augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfiju (RP-HPLC), plānslāņa hromatogrāfiju (TLC), spektrofotometriju, fluorimetriju, kā arī kapilāro elektroforēzi. Visizplatītākās metodes pantoprazola kvantitatīvā satura noteikšanai ir apkopotas 1.5. tabulā un šo metožu validācijas raksturlielumu salīdzinājums ir apskatāms 1.6. tabulā.

1.5. tabula

Analītisko metožu salīdzinājums kvantitatīvai pantoprazola satura noteikšanai

| | |
|---------------------------|---|
| HPLC/MS | <p>Kolonna: YMC (C 18), diametrs (150 × 4,6 mm, 5 μm), temperatūra - 30 °C, plūsmas ātrums – 1,2 mL/min, kustīgā fāze: acetonitrils-amonija formiāts (10 mM), (35:65) Injekcijas tilpums: 10 μL</p> <p>Kvadrupola masspektomers: kopā ar (ESI) elektroizsmidzināšanas jonizāciju, gāzes plūsmas ātrums: 1,5 L/min⁵²</p> |
| RP-HPLC | <p>Apgrieztās fāzes kolonna: Hypersil (C 18), diametrs (250 × 4,6 mm, 5 μm), temperatūra – 25.0 ± 0.1 °C, plūsmas ātrums – 1,0 mL/min, kustīgā fāze: kālija dihidrogēnfosfāta buferviela – acetonitrils, (720:280) Injekcijas tilpums: 20 μL UV detektora viļņu garums: 210 nm⁵³</p> |
| Spektrofotometrija | <p>Viļņu garums: 220 – 340 nm Reaģents: 0,1 M NaOH⁵⁴</p> |
| TLC | <p>Kustīgā fāze: etilacetāts-etanols 99% (3:1)- n-heptāns 99% - amonija hidroksīds (14:5:1) Stacionārā fāze: silikagels Viļņu garums: 280 nm⁵⁵</p> |

Analītisko metožu validācijas rezultātu apkopojums

| | Linearitātes diapazons, µg/mL | LOD, µg/mL | LOQ, µg/mL | Atgūstamība, % | Atkārtojamība, (% RSD) |
|---------------------------|-------------------------------|------------|------------|----------------|------------------------|
| HPLC/MS | 1 – 50 | 0,180 | 0,490 | 99,0 – 100,3 | 0,650 |
| RP-HPLC | 0,4 – 4,0 | 0,148 | 0,400 | 99,91 – 100,20 | 0,538 |
| Spektrofotometrija | 0,5 – 3,5 | 0,035 | 0,090 | 105,0 – 108,0 | 0,400 |
| TLC | 0,8 – 8,0 | 0,153 | 0,462 | 98,53 – 101,58 | 0,710 |

Izvērtējot visas analītiskās metodes, tika secināts, ka vispiemērotākā pantoprazola kvantitatīvā satura noteikšanai būtu HPLC, taču arī citām metodēm piemīt vairākas priekšrocības, tostarp pantoprazola degradācijas produktu veidošanās skābā vidē neietekmē tā noteikšanu ar diferenciāli spektrofotometrisko metodi, kā rezultātā šo metodi ir iespējams pielietot farmaceitiskā produkta ilgstošiem stabilitātes pētījumiem.

Iepriekš minētā TLC metode ir izstrādāta, izmantojot dabai draudzīgākus hromatogrāfiskos šķīdinātājus. Metodes validācijas parametri atbilst ICH vadlīnijas kritērijiem, kā rezultātā to var pielietot rutīnas kvalitātes kontrolei pantoprazola noteikšanai gan AFV, gan farmaceitiskajā produktā bez palīgvielu traucējumiem. TLC metodes priekšrocības galvenokārt sniedz iespēju vairākus paraugus analizēt vienlaicīgi, tādējādi samazinot analīzes laiku, izmaksas un nodrošinot augstu selektivitāti.

Literatūras avoti vēsta, ka piemērota ir arī diferenciālā impulsa adsorbcijas stripinga voltamperometrija pantoprazola noteikšanai, jo savienojums neatgriezeniski oksidējas uz oglekļa pastas elektroda ar adsorbcijas īpašībām. Metode ir jutīga, ātra un vienkārša farmaceitisko preparātu analīzei. Paraugu sagatavošana arī ir salīdzinoši vienkārša un neprasa ekstrakcijas pielietošanu metodei. Detektēšanas robeža sasniedz $2,0 \cdot 10^{-8}$ M.⁵⁶

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Reāģenti, aparatūra un paraugi

- UV spektrofotometrs: (Agilent 8453, Agilent Technologies, Sērijas Nr. CN22809216);
- IR spektrofotometrs: (Thermo Scientific Nicolet 380 FT-IR, Sērijas Nr. AGJ0600373);
- Šķidrums hromatogrāfs: (Waters UPLC H-Class, Sērijas Nr. H11QSM725A);
- Detektors: (Waters UV detector, Sērijas Nr. D11TUV173A);
- pH metrs: (Metrohm, Sērijas Nr. 432722);
- Karla Fišera titrators: (*Metrohm 799 GPT Titrino*, Sērijas Nr. 28725) ;
- Analītiskie svāri (*Mettler Toledo XP205DR*, Sērijas Nr. 5587419, $\pm 0,0001$ g);
- Analītiskie svāri (Sartorius ME235S OCE, Sērijas Nr. 21410307, ± 0.01 mg);
- References standarts (*Pantoprazole sodium sesquihydrate CRS*, Sērijas Nr. 1.2);
- Paraugs (Nolpaza 40 mg pulveris injekciju šķīduma pagatavošanai, Sērijas Nr. C71135);
- Pantoprazola sistēmas piemērotības šķīdums (*Pantoprazole for system suitability CRS*, Sērijas Nr. 8.0);
- Pantoprazola nātrija BF CRS standartšķīdums (*Pantoprazole sodium BP CRS*, Sērijas Nr. 33902, C = 88.4%);
- Analītiskā kolona: Kromasil 100-5-C18, 4.6 x 150 mm, 5 μ m;
- Ūdens hromatogrāfijai (*Millipore Milli-Q Gradient A10*, 18,2 M Ω cm);
- Acetonitrils (*J.T.Baker*, Sērijas Nr.1817201871);
- Kālija hidrogēnfosfāts (*Acros Organics*, Sērijas Nr. A0405451);
- Nātrija citrāta dihidrāts (*Thermo Fisher Scientific*, Sērijas Nr. 181230);
- Mannitols (*Thermo Fisher Scientific*, Sērijas Nr. 1738891);
- Nātrija hidroksīds (*Chempur*, Sērijas Nr. 19/01/11);
- Karla Fišera reāģents (*Sigma-Aldrich*, Sērijas Nr. 1.88005);
- Nātrija hlorīds (*Sigma-Aldrich*, Sērijas Nr. S9888);
- Hidrazīna sulfāts (*Sigma-Aldrich*, Sērijas Nr. 216046);
- Heksamētilēnetetramīns (*Sigma-Aldrich*, Sērijas Nr. 8.18712);
- Dzelzs hlorīda heksahidrāts (*Thermo Fisher Scientific*, Sērijas Nr. A0411506);
- Koncentrēta sālsskābe, 37 % (*Thermo Fisher Scientific*, Sērijas Nr. 10053023);
- Kālija jodīds (*Sigma-Aldrich*, Sērijas Nr. 221945);

- Vara sulfāta pentahidrāts (*Chempur*, Sērijas Nr. 426583102);
- Kobalta hlorīda heksahidrāts (*Thermo Fisher Scientific*, Sērijas Nr. 149652).

2.2. Analītisko metožu izstrāde

Analītisko metožu izstrāde ir pamatā balstīta uz AFV monogrāfiju, references produkta izpēti, tā sastāvu un palīgvielu veidiem, kā arī ICH (Q6A) vadlīniju prasībām pulvera zāļu formai. Kad nepieciešamā informācija ir apkopota, tad seko laboratorijas eksperimenti. Tā kā galvenokārt Eiropas Farmakopejā ir aprakstītas metodes AFV, gatavās zāļu formas metodes ir jāizstrādā un attiecīgi jāvalidē farmaceitiskajam uzņēmumam. Lai veiktu pilnīgu “ģenēriskā preparāta” analītisko metožu izstrādi, ir jāizpilda sekojoši nosacījumi:

1. References produkta ķīmiskās analīzes;
2. AFV un palīgvielu kontrole;
3. Formulācijas izstrāde;
4. Produkta analītisko metožu un kvalitātes specifikācijas izstrāde;
5. Pirmsstabilitātes pētījumi.

Izstrādātā kvalitātes specifikācija pantoprazolam ietver vairāku parametru pārbaudi. Nosakāmo rādītāju un to normu apkopojums ir attēlots 2.1. tabulā.

2.1. tabula

Kvalitātes specifikācijas rādītāji pantoprazolam

| Nr.p.k. | Specifikācijas rādītāji | Metode | Prasība |
|---------|-------------------------|--|--|
| 1. | Apraksts | Organoleptiski | Balta vai gandrīz balta viendabīga poraina masa |
| 2. | Identitāte | A. HPLC (<i>in-house</i>) B. UV spektrs (<i>in-house</i>) | Jāatbilst testiem |
| 3. | Šķīduma raksturojums | Ph.Eur. 2.2.1, Ph.Eur. 2.2.2, <i>metode II</i> | Dzidrs šķīdums, kurš nepārsniedz references šķīdumu B ₅ vai BY ₅ |
| 4. | pH | Ph.Eur. 2.2.3 | 9,0 – 11,5 |
| 5. | Ūdens saturs | Ph.Eur. 2.5.12 | Ne vairāk par 2,0 % |

Kvalitātes specifikācijas rādītāji pantoprazolam

| Nr.p.k. | Specifikācijas rādītāji | Metode | Prasība |
|---------|-------------------------|------------------------------------|---|
| 6. | Devas viendabīgums | Ph.Eur. 2.9.40 | Ne vairāk par 15,0 % |
| 7. | Degradācijas produkti | HPLC (in-house) | Degradācijas produkts A¹ Ne vairāk par 0,2 % Degradācijas produkts B² Ne vairāk par 0,2 % Degradācijas produkts C³ Ne vairāk par 0,2 % Ikviens cits degradācijas produkts Ne vairāk par 0,2 % Summa Ne vairāk par 0,8 % |
| 8. | Sterilitāte | Ph.Eur. 2.6.1 | Sterils |
| 9. | Bakteriālie endotoksīni | Ph.Eur. 2.6.14, <i>metode A</i> | Ne vairāk par 1,5 IU/mg |
| 10. | Kvantitatīvais saturs | HPLC (in-house) | 95,0 – 105,0 % |

Tā kā pantoprazola validācijas sērijas vēl nav saražotas, analītisko metožu pārbaude ir veikta references produktam Nolpaza 40 mg. Saskaņā ar vadlīniju ICH Q6A, identitātes testiem ir jābūt specifiskiem attiecībā uz farmaceitisko produktu, kā rezultātā bez hromatogrāfijas izdalīšanās laika pārbaudes, papildus veic UV spektrometriju, kur absorbcijas maksimumam vajadzētu būt pie 289 ± 2 nm.

UV spektrometrija

Analizējamā šķīduma sagatavošana: 40 mg analizējamās vielas izšķīdināja 10,0 mL dejonizēta ūdens. 1,0 mL iegūtā šķīduma pārnesa 100,0 mL mērkolbā, atšķaidīja ar ūdeni līdz atzīmei un kārtīgi samaisīja. 5,0 mL iegūtā šķīduma pārnesa 20,0 mL mērkolbā, atkal atšķaidīja ar ūdeni un mērkolbu kārtīgi samaisīja.

¹ 5-(difluormetoksi-2-[[[3,4-dimetoksipiridīn-2-il)metil]sulfonil]-1H-benzimidazols;

² 6-(difluormetoksi)-2-[[[3,4-dimetoksi-1-oksido-2-piridinil)metil]sulfonil]-1H-benzimidazols (pantoprazola-N-oksīds);

³ 5-(difluormetoksi)-1H-benzimidazol-2-tiols.

Analītiskā procedūra: analizējamam šķīdumam izmēra gaismas absorbciju viļņu garuma diapazonā no 240 – 340 nm 10 mm kivetēs, izmantojot ūdeni kā tukšo paraugu.

Lai papildus pārlicinātos par farmaceitiskā produkta identitāti, tika pielietota arī infrasarkanā (IR) spektroskopija.

IR spektroskopija

Analizējamā šķīduma sagatavošana: 40 mg analizējamās vielas izšķīdināja 10 mL acetona, nofiltrēja un iztvaicēja līdz sausiai vielai. Atlikumu žāvēja 60 °C, aptuveni 30 minūtes. Infrasarkanā absorbcijas spektru uzņēma intervālā no 400 cm⁻¹ līdz 4000 cm⁻¹. IR spektram ir jāatbilst pantoprazola nātrija references spektram.

Balstoties uz apkopotajiem literatūras datiem, kā arī uz AFV farmakopejas kvantitatīvā satura noteikšanas metodi, tika izstrādāta analītiskā metode gatavai zāļu formai, kas ir liofilizēts pulveris injekciju šķīduma pagatavošanai. Kvantitatīvā satura noteikšanu veic vienlaicīgi ar devas viendabīguma noteikšanu.

Metodes parametri:

Kolonna: Kromasil 100-5-C18, 150 x 4.6 mm (5 μm) vai analogs;

Kustīgā fāze: A: buferšķīdums, B: acetonitrils;

Plūsmas ātrums: 1,0 mL/min;

Kolonnas temperatūra: 40 °C;

Parauga temperatūra: 10 °C;

Injekcijas tilpums: 20 μL;

Detektora viļņu garums: UV 290 nm;

Gradients:

| Laiks, min | Kustīgā fāze A, % | Kustīgā fāze B, % |
|------------|-------------------|-------------------|
| 0 | 73,0 | 27,0 |
| 12 | 61,0 | 39,0 |
| 14 | 15,0 | 85,0 |
| 19 | 15,0 | 85,0 |
| 21 | 73,0 | 27,0 |
| 25 | 73,0 | 27,0 |

Šķīdumu pagatavošana:

20 % fosforskābe: 100 mL mērkolbā nelielam daudzumam dejonizēta ūdens pievienoja 24 mL koncentrētu fosforskābi un atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei, samaisīja.

Bufersšķīdums: 1,74 g bezūdens kālija hidrogēnfosfāta (K_2HPO_4) izšķīdināja 1000 mL dejonizēta ūdens, pielāgoja pH ap 7,0 ar 20 % fosforskābi un filtrēja caur membrānu filtru, kura poru diametrs ir ne vairāk par 0,45 μ m.

Šķīdinātājs: Samaisīja vienādos tilpumos kopā 40 mg/mL NaOH šķīdumu un acetonitrilu.

Testa šķīdums: Sagatavoja 10 pantoprazola flakonus (izmanto tos flakonus, ar kuriem veikta devas viendabīguma analīze). Iegūto šķīdumu samaisīja un filtrēja caur membrānas filtru, kura poru diametrs ir ne vairāk par 0,45 μ m, neņemot pirmos 2 mL. 100,0 mL mērkolbā pievienoja 1,0 mL pagatavotā šķīduma un atšķaidīja līdz atzīmei ar šķīdinātāju, samaisīja. Sagatavoja 2 testa šķīdumus.

Standartšķīdums: precīzi nosvēra apmēram 15,0 mg *pantoprazola references standartu*, un pārnesa to 100,0 mL mērkolbā. Mērkolbai pievienoja šķīdinātāju līdz atzīmei, samaisīja. 10,0 mL mērkolbā pievienoja 3,0 mL iegūtā šķīduma un atšķaidīja līdz atzīmei, samaisīja. Tā sagatavoja 2 standartšķīdumus.

Analīzes gaita

Sākumā nostabilizē kolonnu un injicē sagatavotos paraugus sekojošā kārtībā:

- Šķīdināšanas vide;
- Pirmais standartšķīdums, injicē sešas reizes;
- Otrais standartšķīdums;
- Šķīdināšanas vide;
- Testa šķīdums – divi šķīdumi, katru injicē trīs reizes;
- Otrais standartšķīdums.

Izdalīšanās laiks pantoprazola smailei ir aptuveni 10 minūtes.

Aprēķini

Pantoprazola kvantitatīvo saturu (X) procentuāli aprēķina pēc sekojošā vienādojuma (2.1. vienādojums):

$$X_{\%} = \frac{S_{an} \times m_{st.} \times V_{an} \times C_{st}}{S_{st.} \times V_{st} \times a}, \quad (2.1)$$

S_{an} – pantoprazola smailes laukums analizējamā šķīduma hromatogrammā;

S_{st} – pantoprazola smailes laukums standartšķīduma hromatogrammā;

m_{st} – pantoprazola standartvielas iesvars, mg;

V_{st} – standartšķīduma atšķaidījums, mL;

V_{an} – testa šķīduma atšķaidījums, mL;

C_{st} – pantoprazola standartvielas kvantitatīvais saturs, %;

a – deklarētais pantoprazola daudzums produktā, mg.

Sistēmas piemērotība

- Simetrijas faktoram jābūt robežās no 0,8 – 1,5.
- Teorētiskais šķīvju skaits nedrīkst būt zemāks par 2000.
- Relatīvā standartnovirze nedrīkst pārsniegt 2,0 %.

Ne mazāk svarīgs posms ir metode degradācijas piemaisījumu noteikšanai. Tā kā katrai sintētiskai vielai sintēzes gaitā veidojas raksturīgi piemaisījumi, ir svarīgi noteikt to iespējamo atrašanos farmaceitiskajā produktā. Izmantojot izstrādāto HPLC, ir iespējams noteikt gan iespējamus degradācijas piemaisījumus, gan nezināmos piemaisījumus, kuri ir radušies AFV sintēzes gaitā.

Metodes apraksts:

Kolonna: Kromasil 100-5-C18, 150 x 4,6 mm (5 μm) vai analogs;

Kustīgā fāze: A: buferšķīdums, B: acetonitrils;

Plūsmas ātrums: 1,0 mL/min;

Kolonnas temperatūra: 40 °C;

Parauga temperatūra: 10 °C;

Injekcijas tilpums: 20 μL;

Detektora viļņu garums: UV 290 nm;

Gradients:

| Laiks, min | Kustīgā fāze A, % | Kustīgā fāze B, % |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|
| 0 | 90,0 | 10,0 |
| 3 | 90,0 | 10,0 |
| 33 | 60,0 | 40,0 |
| 48 | 15,0 | 85,0 |
| 50 | 90,0 | 10,0 |
| 60 | 90,0 | 10,0 |

Šķīdumu pagatavošana:

20 % fosforskābe: 100 mL mērkolbā nelielam daudzumam dejonizēta ūdens pievienoja 24 mL koncentrētu fosforskābi un atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei, samaisīja.

Buferšķīdums: 1,74 g bezūdens kālija hidrogēnfosfāta (K_2HPO_4) izšķīdināja 1000 mL dejonizēta ūdens, pielāgoja pH ap 7,0 ar 20 % fosforskābi un filtrēja caur membrānu filtru, kura poru diametrs ir ne vairāk par 0,45 μ m.

Šķīdinātājs: Samaisīja vienādos tilpumos kopā 40 mg/mL NaOH šķīdumu un acetonitrilu.

Testa šķīdums: 40 mg pantoprazola izšķīdināja ar 50 mL šķīdinātāja, šķīdumu pārnesa 100,0 mL mērkolbā un atšķaidīja līdz atzīmei. Iegūto šķīdumu samaisīja un filtrēja caur membrāna filtru, kura poru diametrs ir ne vairāk par 0,45 μ m, neņemot pirmos 2 mL. Tā sagatavoja 2 testa šķīdumus.

Salīdzināšanas šķīdums (a): 20,0 mL mērkolbā pievienoja 1,0 mL testa šķīduma un atšķaidīja ar šķīdinātāju līdz atzīmei, samaisīja. 10,0 mL mērkolbā pievienoja 1,0 mL sagatavotā šķīduma un atšķaidīja līdz atzīmei ar šķīdinātāju, samaisīja.

Salīdzināšanas šķīdums (b): 10,0 mL mērkolbā pievienoja 2,0 mL *salīdzināšanas šķīdumu (a)* un atšķaidīja līdz atzīmei ar šķīdinātāju, samaisīja.

Sistēmas piemērotības šķīdums: 10,0 mL mērkolbā pievienoja flakona saturu, kurš satur pantoprazolu sistēmas piemērotībai EPCRS un atšķaidīja līdz atzīmei ar šķīdinātāju, samaisīja.

Placebo šķīdums: 50 mL vārglāzē pievienoja 280,0 mg mannitola un 10,0 g nātrija citrāta dihidrāta, kurus šķīdināja ar pagatavoto šķīdinātāju. Iegūto šķīdumu atšķaidīja līdz 100,0 mL ar šķīdinātāju, samaisīja. 10,0 mL mērkolbā pievienoja 5,0 mL iegūtā šķīduma, atšķaidīja līdz atzīmei ar šķīdinātāju, samaisīja un filtrēja caur membrāna filtru, kura poru diametrs ir ne vairāk par 0,45 μ m, atmeta pirmos 2 mL.

Sistēmas piemērotība

- Relatīvajai standartnovirzei pantoprazola smailes laukumiem starp trīs *salīdzināšanas šķīduma (a)* injekcijām ir jābūt ne vairāk par 2,0 %;
- *Salīdzināšanas šķīduma (b)* hromatogrammā pantoprazola smailes signāla/trokšņa attiecībai ir jābūt ne mazāk par 10;

- Izšķiršanai starp pantoprazola smailei un piemaisījumu D+F smailei ir jābūt ne mazāk par 3,0 sistēmas piemērotības šķīdumā.

Analīzes gaita

Sākumā nostabilizē kolonnu un injicē sagatavotos paraugus sekojošā kārtībā:

- Šķīdināšanas vide;
- Placebo šķīdums;
- Sistēmas piemērotības šķīdums;
- Šķīdināšanas vide;
- *Salīdzināšanas šķīdums (a)*, injicē trīs reizes;
- *Salīdzināšanas šķīdums (b)*;
- Testa šķīdums – divi šķīdumi, katru injicē vienu reizi;
- Sistēmas piemērotības šķīdums.

Aprēķini

Jebkurai individuālam piemaisījumam saturu (X) procentuāli aprēķina pēc sekojošā vienādojuma (2.2. vienādojums):

$$X = \frac{S_i \times 100}{S_{ref} \times 200} = \frac{S_i \times 0.5}{S_{ref}}, \quad (2.2)$$

S_i – individuālā piemaisījuma smailes laukums testa šķīduma hromatogrammā;

S_{ref} – pantoprazola smailes laukums *salīdzināšanas šķīduma (a)* hromatogrammā;

200 – kopējais atšķaidījums *salīdzināšanas šķīdumam (a)*

100 – pārrēķināšanas faktors no decimāldaļas līdz procentiem.

2.3. Liofilizācijas cikla izstrāde

Apkopojot informāciju no literatūras avotiem, tika izstrādāts liofilizācijas cikls, kurš tiks izmantots produkta ražošanai. Tā kā produkta eitektiskais punkts ir – 3 °C, tā kriogēnā temperatūra ir aptuveni – 40 °C, kā rezultātā sākotnēji produkts tiks izturēts – 38 °C, veicot pirmo liofilizācijas cikla soli – produkta izsaldēšanu atmosfēras spiedienā, kam sekotu primārā un sekundārā žāvēšana, lai ledus kristāli sāktu atdalīties, līdz šķīdums kļūtu maksimāli koncentrēts un turpmākajā dzesēšanas laikā izšķīdušā viela atdalītos no ledus fāzes

un tiktu iegūts gala produkts ar vēlamo mitruma saturu. Lai varētu panākt efektīvāku ūdens satura atbrīvošanu no produkta, pēc tā izsaldēšanas izmantos vakuuma apstākļus, ļaujot ledum tieši mainīties no cietas vielas uz tvaikiem, nešķērsojot šķidro fāzi. Liofilizācijas cikls ar piemērotākajiem apstākļiem ir apskatāms 2.2. tabulā un tā pārskatāms grafiskais attēlojums ir redzams 1. pielikumā.

2.2. tabula

Liofilizācijas cikls

| Solis | Soļa laiks, min | Kopējais laiks, min | Sākotnējā temperatūra, °C | Beigu temperatūra, °C | Sākotnējais vakuums, Pa | Beigu vakuums, Pa |
|--------------|------------------------|----------------------------|----------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| 0 | - | - | 0 | - | - | - |
| 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1000 | 1000 |
| 2 | 120 | 121 | 0 | -38 | 1000 | 1000 |
| 3 | 300 | 421 | -38 | -38 | 1000 | 1000 |
| 4 | 15 | 436 | -38 | -38 | 90 | 90 |
| 5 | 30 | 466 | -38 | -31 | 90 | 90 |
| 6 | 380 | 846 | -31 | -31 | 90 | 90 |
| 7 | 90 | 936 | -31 | -10 | 90 | 90 |
| 8 | 240 | 1176 | -10 | -10 | 90 | 90 |
| 9 | 60 | 1236 | -10 | 0 | 90 | 90 |
| 10 | 180 | 1416 | 0 | 0 | 70 | 70 |
| 11 | 45 | 1461 | 0 | 10 | 70 | 70 |
| 12 | 60 | 1521 | 10 | 10 | 70 | 70 |
| 13 | 60 | 1581 | 10 | 20 | 50 | 50 |
| 14 | 240 | 1821 | 20 | 20 | 50 | 50 |
| 15 | 120 | 1941 | 20 | 40 | 50 | 50 |
| 16 | 240 | 2181 | 40 | 40 | 50 | 50 |
| 17 | 1 | 2182 | 40 | 40 | 50 | 50 |

2.4. Pantoprazola pilotsērijas analizēšana

Pielietojot izstrādāto liofilizēto ciklu un formulāciju gatavajam produktam, saražoja pilotsēriju jeb neliela izmēra produkta partiju, kura galvenokārt tiek ražota, lai pilnvērtīgi sagatavotos pilna mēroga partijai. Neliela mēroga partijas sniedz iespēju pārbaudīt produkta īpašības un uzlabot metodes, lai saražotu kvalitatīvas validācijas sērijas, kuras izmantotu tālāk produkta izpētei un attiecīgi reģistrācijai.

Stabilitātes pētījumus veica saskaņā ar kvalitātes specifikāciju, sākot ar identitātes, kvantitatīvā satura un piemaisījumu noteikšanu pēc tādiem pašiem metodes principiem, kā aprakstīts iepriekš sadaļā 2.2 *Analītisko metožu izstrāde*. Pēc tam sekoja klasiskās analīzes, kur sākumā paraugiem aprakstu novērtēja organoleptiski un ūdens saturu noteica ar Karla Fišera titrēšanas metodi. Metanolu iesūknēja automātiskajā titratora šūnā un titrēja saistīto mitrumu ar Karla Fišera reaģentu līdz stehiometriskajam punktam (kondicionēja). Nosvēra 80 mg pilotsērijas parauga, kvantitatīvi pārnesa titrēšanas šūnā, izšķīdināja un titrēja ar Karla Fišera reaģentu, kura koncentrācija ir 5 mg/mL. Analizējamo paraugu izvēlas tādu, lai titrēšanas procesā izlietotu 10 līdz 90 % no biretes tilpuma. Aprakstīto procesu atkārtoja trīs reizes. Analizējamam paraugam ūdens saturu (X) procentuāli aprēķina pēc sekojošā vienādojuma (2.3. vienādojums) –

$$X = \frac{V_F \cdot T \cdot 100}{m_{an} \cdot 1000} = \frac{V_F \cdot T}{m_{an} \cdot 10} \quad (2.3)$$

V_F – izlietotais Karla Fišera reaģenta tilpums, mL

T – Karla Fišera reaģenta titrs, mg/mL

m_{an} – analizējamā parauga iesvars, g

Devas viendabīgumu noteica saskaņā ar kvantitatīvā satura noteikšanas metodi, analizējot 10 paraugus. Katram paraugam attiecīgi noteica kvantitatīvo saturu. Zinātniskais raksts⁵⁷ vēsta, ka šis parametrs ir noteikti jāiekļauj gatavā produkta specifikācijā, lai pārliecinātos par vienveidīgu aktīvās vielas daudzumu katrā produkta paraugā. Respektīvi, cilvēka organismā ir jānonāk vienādam aktīvās vielas daudzumam, vienādā laika periodā.

Papildus prasībām saskaņā ar ICH vadlīniju Q6A, pantoprazola pilotsērijai pārbaudīja vielas izšķīšanas laiku, proti, cik ātri izšķīst pulveris piemērotā šķīdinātājā. Saskaņā ar references produkta lietošanas instrukciju, intravenozo šķīdumu lietošanai sagatavoja,

injicējot 10 mL 9 mg/mL (0,9%) nātrija hlorīda šķīduma injekcijām flakonā, kurā ir liofilizēts pulveris. Sagatavotajam šķīdumam jābūt dzidram un bezkrāsainam. Šo šķīdumu var ievadīt tieši vai pēc sajaukšanas ar 100 mL 9 mg/mL (0,9%) nātrija hlorīda šķīduma injekcijām vai 50 mg/mL (5%) glikozes šķīduma injekcijām. Atšķaidīšanai jāizmanto stikla vai plastmasas trauki. Šo parametru pārbauda saražotai pilotsērijai, lai izvērtētu, vai attiecīgais parametrs ir jāiekļauj kvalitātes specifikācijā. Publikācija⁵⁸ vēsta, ka ir nepieciešams precīzi izmērīt izšķīšanas laiku farmācijas nozarē vairākiem darbības procesiem, tostarp gatavā produkta izstrādei, liofilizācijas procesa izstrādei, produkta testēšanai, kā arī konsistences novērtēšanai. Tā kā kristāliskas formas gatavā produkta, īpatnējās virsmas laukuma un formulācijas izmaiņas var būtiski ietekmēt izšķīšanas laiku, tā mērīšana var būt noderīga, novērtējot liofilizēta produkta ražošanas procesa, ražošanas vietas vai aprīkojuma izmaiņas, un kvalitātes kontroli. Pantoprazola gadījumā parametrs netiks iekļauts specifikācijā, jo pulveris izšķīda ļoti ātri – ātrāk par 30 sekundēm.

Turpmākajām analīzēm pagatavoja šķīdumu, kas satur 0,4 % (w/v) pantoprazola 0,9 % nātrija hlorīda šķīdumā, kuru izmantoja pH, dzidrības un krāsas noteikšanai pantoprazola pilotsērijai. Sagatavotajā šķīdumā iegremdēja elektrodu un potenciometriski noteica pH pēc metodes, kura aprakstīta Ph.Eur.2.2.3., mērot potenciālu starpību starp 2 elektrodiem – stikla un Ag-AgCl, kas ir kombinēti vienā elektrodu pāri. Rezultātu nolasa tādos pašos apkārtējās vides apstākļos, kādus izmantoja pH metra standartizēšanai ar buferšķīdumiem, veica trīs paralēlos mērījumus.

Dzidrības noteikšanas metodei izmantoja identiskas mēģenes no bezkrāsaina, caurspīdīga stikla ar plakanu pamatni, kurām iekšējais diametrs ir 15–25 mm un salīdzināja analizējamo šķīdumu ar svaigi pagatavotu references suspensiju, kā, aprakstīts zemāk, izmantojot slāņa dziļumu 40 mm. Šķīdumu salīdzināja izkliedētā dienasgaismā 5 minūtes pēc references suspensijas pagatavošanas, vertikāli skatoties uz melna fona. Gaismas izkliedei jābūt tādai, lai references suspensiju I varētu viegli atšķirt no dejonizēta ūdens un references suspensiju II var viegli atšķirt no references suspensijas I.

Šķidrums tiek uzskatīts par dzidru, ja tā dzidrums ir tāds pats kā dejonizētam ūdenim, vai ja tā opalescence nav izteiktāka kā references suspensijai I.

Hidrazīna sulfāta šķīdums. 1,0 g hidrazīna sulfāta izšķīdināja dejonizētā ūdenī un atšķaidīja līdz 100,0 ml. Lāva nostāvēties 4-6 h.

Heksamētilenetetramīna šķīdums. 100 mL slīpēta stikla kolbā izšķīdināja 2,5 g heksamētilenetetramīna 25,0 mL dejonizēta ūdens.

Primārā opalescences suspensija (formazīna suspensija). Kolbā esošajam heksametilenetetramīna šķīdumam pievienoja 25,0 mL hidrazīna sulfāta šķīduma. Samaisīja un ļāva nostāvēties 24 stundas. Šī suspensija ir stabila 2 mēnešus, ja to uzglabā stikla traukā, kurā nav virsmas defektu. Suspensija pirms lietošanas ir kārtīgi jāsajauc.

Standarta opalescence. 15,0 mL primārās opalescences suspensijas atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni līdz 1000,0 mL. Šī suspensija ir svaigi pagatavota un to var uzglabāt līdz 24 stundām.

References suspensija. Sagatavoja references suspensiju saskaņā ar 2.3. tabulu (References suspensiju I). Pirms lietošanas šķīdumu samaisīja un sakratīja.

2.3. tabula

References suspensiju pagatavošana pēc noteiktām attiecībām

| | I | II | III | IV |
|------------------------|---------|---------|---------|---------|
| Opalescences standarts | 5,0 mL | 10,0 mL | 30,0 mL | 50,0 mL |
| Ūdens | 95,0 mL | 90,0 mL | 70,0 mL | 50,0 mL |

Lai papildus izvērtētu iegūtos rezultātus no dzidrības noteikšanas metodes, izmantoja turbidimetru. Turbidimetrs ir plaši izmantots analītiskās mērīšanas instruments, kuru izmanto, lai noteiktu šķīduma relatīvo dzidrību, mērot gaismas daudzumu, kurš tiek izkliedēts no suspendētajām daļiņām šķīduma paraugā.

Krāsas noteikšanas metodei izmantoja identiskas bezkrāsainas, caurspīdīgas, stikla caurulītes ar plakānu pamatni un iekšējo diametru no 15 mm līdz 25 mm, salīdzinot analizējamo šķīdumu ar ūdeni vai šķīdinātāju vai references šķīdumu, izmantojot slāņa dziļumu 40 mm. Krāsas salīdzināja izkliedētā dienasgaismā, vertikāli skatoties uz balta fona. Lai izvērtētu farmaceitiskā produkta krāsu, tika pagatavoti vairāku krāsu šķīdumi, kuru pagatavošanas darbības ir aprakstītas zemāk. Lai pārlicinātos par precīzu koncentrāciju krāsu šķīdumiem, veica titrēšanu, kur attiecīgi salīdzināja iegūto rezultātu ar Eiropas farmakopejā norādīto.

1. *FeCl₃ šķīdums* Izšķīdināja 46 g dzelzs hlorīda apmēram 900 mL maisījuma, kas sastāv no 25 mL sālsskābes un 975 mL dejonizēta ūdens un atšķaidīja līdz 1000,0 mL ar tādu pašu maisījumu. Sargāja šķīdumu no gaismas.

250 mL koniskajā kolbā ar slīpēta stikla aizbāzni ievietoja 10,0 mL šķīduma, 15 mL ūdens, 5 mL sālsskābes un 4 g kālija jodīda. Kolbu aizvēra un ļāva tai nostāvēties tumšā telpā aptuveni 15 minūtes, un pēc tam pievienoja 100 mL dejonizēta ūdens. Atbrīvoto jodu titrēja ar 0,1 M nātrija tiosulfātu, kā indikatoru pievienoja

0,5 mL cietes šķīduma. 1 mL 0,1 M nātrija tiosulfāta ir ekvivalents 27,03 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

2. CoCl_2 šķīdums 60 g kobalta hlorīda izšķīdināja apmēram 900 mL maisījuma, kas sastāv no 25 mL sālsskābes un 975 mL dejonizēta ūdens un atšķaidīja līdz 1000,0 mL ar tādu pašu maisījumu.

250 mL koniskajā kolbā ar slīpēta stikla aizbāzni ievietoja 5,0 mL šķīduma, 5 mL atšķaidīta ūdeņraža peroksīda šķīduma un 10 mL nātrija hidroksīda šķīduma

($\gamma = 300 \text{ g/L}$). Viegli vārīja šķīdumu aptuveni 10 minūtes, ļāva tam atdzist un pievienoja 60 mL atšķaidītas sērskābes un 2 g kālija jodīda. Kolbu aizvēra un nogulsnes izšķīdināja, viegli kratot. Atbrīvoto jodu titrēja ar 0,1 M nātrija tiosulfāta, kā indikatoru pievienojot 0,5 mL cietes šķīduma. Stehiometriskais punkts tiek sasniegts, kad šķīdums kļūst sārts. 1 mL 0,1 M nātrija tiosulfāta ir ekvivalents 23,79 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

3. CuSO_4 šķīdums 63 g vara sulfāta izšķīdināja apmēram 900 mL maisījuma, kas sastāv no 25 mL sālsskābes un 975 mL ūdens un atšķaidīja līdz 1000,0 mL ar to pašu maisījumu.

250 mL koniskajā kolbā ar slīpēta stikla aizbāzni ievietoja 10,0 mL šķīduma, 50 mL dejonizēta ūdens, 12 mL atšķaidītas etiķskābes un 3 g kālija jodīda. Atbrīvoto jodu titrēja ar 0,1 M nātrija tiosulfātu, izmantojot 0,5 mL cietes šķīduma, kuru pievienoja titrēšanas beigās kā indikatoru. Stehiometriskais punkts tiek sasniegts, kad šķīdumam ir gaiši brūna krāsa. 1 mL 0,1 M nātrija tiosulfāta ir vienāds ar 24,97 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Izmantojot trīs krāsu šķīdumus, sagatavoja standartšķīdumus B un BY, saskaņā ar

2.4. tabulā norādītajiem tilpumiem:

2.4. tabula

Standartšķīdumi

| Standartšķīdums | Tilpums, mL | | | Sālskābe (10 g/L HCl) |
|------------------------------|---|--|---|--------------------------|
| | Dzeltenās krāsas šķīdums (FeCl_3) | Sarkanās krāsas šķīdums (CoCl_2) | Zilās krāsas šķīdums (CuSO_4) | |
| B (brūns) | 3,0 | 3,0 | 2,4 | 1,6 |
| BY (brūnīgi dzeltens) | 2,4 | 1,0 | 0,4 | 6,2 |
| Y (dzeltens) | 2,4 | 0,6 | 0,0 | 7,0 |
| GY (zaļi dzeltens) | 9,6 | 0,2 | 0,2 | 0,0 |
| R (sarkans) | 1,0 | 2,0 | 0,0 | 7,0 |

Izmantojot standartšķīdumus B un BY, sagatavoja references šķīdumus B₅ un BY₅, saskaņā ar 2.5. un 2.6. tabulu norādītajiem tilpumiem:

2.5. tabula

| References šķīdumi (BY) | | |
|-------------------------|--------------------|--------------------------|
| Tilpums, mL | | |
| References šķīdums | Standartšķīdums BY | Sālskābe (10 g/L HCl) |
| BY1 | 100,0 | 0,0 |
| BY2 | 75,0 | 25,0 |
| BY3 | 50,0 | 50,0 |
| BY4 | 25,0 | 75,0 |
| BY5 | 12,5 | 87,5 |
| BY6 | 5,0 | 95,0 |
| BY7 | 2,5 | 97,5 |

2.6. tabula

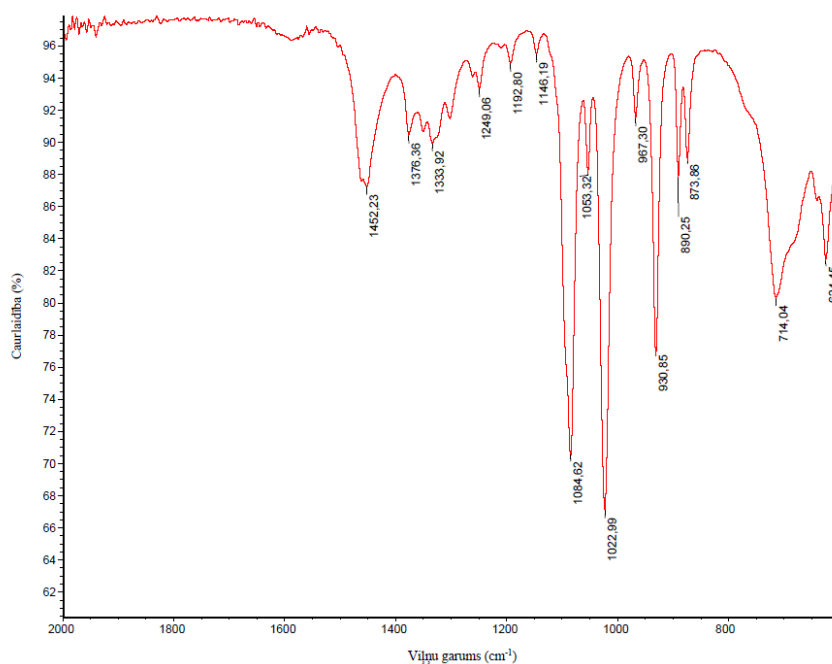
| References šķīdumi (BY) | | |
|-------------------------|-------------------|--------------------------|
| Tilpums, mL | | |
| References šķīdums | Standartšķīdums B | Sālskābe (10 g/L HCl) |
| B1 | 75,0 | 25,0 |
| B2 | 50,0 | 50,0 |
| B3 | 37,5 | 62,5 |
| B4 | 25,0 | 75,0 |
| B5 | 12,5 | 87,5 |
| B6 | 5,0 | 95,0 |
| B7 | 2,5 | 97,5 |
| B8 | 1,5 | 98,5 |
| B9 | 1,0 | 99,0 |

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

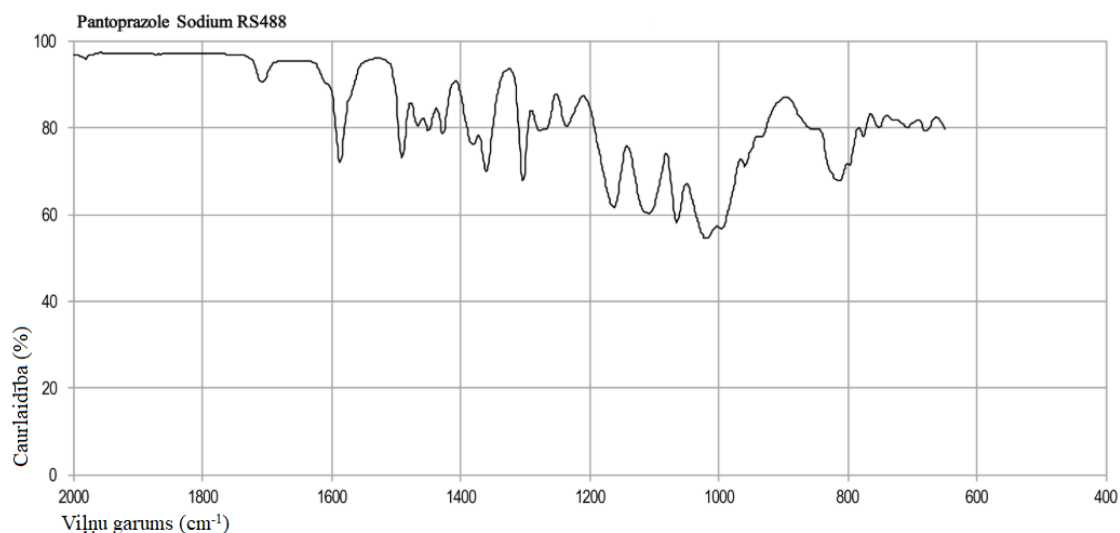
3.1. Analītisko metožu izvērtēšana

Veicot references produkta identitātes, kvantitatīvā satura un piemaisījumu pētījumus, iegūtie rezultāti parādīja, ka izstrādātās analīžu metodes ir piemērotas liofilizēta pulvera zāļu formas pārbaudei, taču katrai izstrādātai metodei ir jāveic validācija, atsaucoties uz ICH vadlīniju prasībām un to pieņemtajām normām. Tā kā liofilizēta farmaceitiskā produkta izstrāde prasa laiku, validācijas tiks izstrādātas pēc validāciju sēriju saražošanas ar piemērotu liofilizācijas ciklu.

Analizējot veiktos identitātes pētījumus, var redzēt, ka iegūtā UV spektra Nolpaza 40 mg absorbcijas maksimums iekļaujas noteiktajā normā – 289 ± 2 nm (skat. 2. pielikumu) un IR spektrs, kurš apskatāms 3.1. attēlā atbilst pantoprazola nātrija references spektram (skat. 3.2. attēlu).



3.1.att. Nolpaza 40 mg IR spektrs



3.2.att. Pantoprazola nātrija IR spektrs

Kvantitatīvais saturs

Zemāk ir redzami rezultāti un aprēķinu gaita (skat. 3.1., 3.2 tabulas), kurus pielietojot, tika aprēķināts kvantitatīvais saturs, izmantojot rezultātus no iegūtajām hromatogrammām, kuras atrodamas 3.-8. pielikumos.

3.1. tabula

| Rezultātu tabula (1) | | |
|----------------------|------------------|-----------------------------|
| | Vidējais laukums | Izdalīšanās laiks (RT), min |
| Standarts (1) | 1898188 | 8,5 |
| Standarts (2) | 1805623 | 8,5 |
| Nolpaza_C71135_1 | | 8,5 |
| Nolpaza_C71135_2 | | 8,5 |

Rezultātu tabula (2)

| Sērija | Rezultāts ar pirmo standartu, % | Vidējais rezultāts, % |
|------------------|--|-----------------------|
| Nolpaza_C71135_1 | 97,6 | 97,7 |
| Nolpaza_C71135_2 | 97,7 | |
| Prasības | Kvantitatīvais saturs 95,0 – 105,0 % | |
| Piezīmes | Rezultāti ir izrēķināti pēc pirmā standarta. Abu standartu masu un laukumu attiecības reizinājums iekļaujas robežās no 0,98 līdz 1,02: $\frac{S_{st\#1}}{S_{st\#2}} \cdot \frac{m_{st\#2}}{m_{st\#1}} = \frac{1898188}{1805623} \cdot \frac{15,01 \text{ mg}}{15,42 \text{ mg}} = 1,02$ | |

$$\text{Aprēķina formula: } X_{\%} = \frac{S_{an} \times m_{st} \times V_{an} \times C_{st}}{S_{st} \times V_{st} \times a}$$

$$\text{Aprēķina piemērs: } X(1)_{\%} = \frac{1811768 \times 15,42 \text{ mg} \times 1000 \text{ mL} \times 88,4 \%}{1898188 \times \left(\frac{1000}{3}\right) \text{ mL} \times 40 \text{ mg}} = 97,6 \%$$

S_{an} – pantoprazola smailes laukums analizējamā šķīduma hromatogrammā;

S_{st} – pantoprazola smailes laukums standartšķīduma hromatogrammā;

m_{st} – pantoprazola standartvielas iesvars, mg;

V_{st} – standartšķīduma atšķaidījums, mL;

V_{an} – testa šķīduma atšķaidījums, mL;

C_{st} – pantoprazola standartvielas kvantitatīvais saturs, %;

a – deklarētais pantoprazola daudzums produktā, mg.

Izstrādātajai metodei sistēmas piemērotības parametri atbilst noteiktajām prasībām pēc ICH vadlīnijas (skat. 3.3. tabulā).

Sistēmas piemērotības pārbaude

| Parametrs | Simetrijas faktors | Šķīvju skaits | RSN, % |
|----------------------|--------------------|---------------|--------|
| Prasības | 0,8-1,5 | ≥ 2000 | ≤ 2,0 |
| Rezultāts standartam | 1,0 | 22843 | 0,10 |

Degradācijas produkti

Zemāk ir redzama aprēķinu gaita, pēc kuras tiek aprēķināts piemaisījumu saturs, izmantojot rezultātus no iegūtajām hromatogrammām, kuras pievienotas 9.-10. pielikumos.

3.4. tabula

Degradācijas produktu izvērtēšana

| | Deva | Vid. laukums | Degradācijas produktu saturs | | | | Summa |
|-------------------------|----------|--------------|--|-------------------------|---------------------------|------------------------------------|-------------|
| | | | Degradācijas produkts A | Degradācijas produkts B | Degradācijas produkti D+F | Ikviens cits degradācijas produkts | |
| References šķ. A (0,5%) | | 90530 | | | | | |
| Nolpaza_C71135_1 | 40 mg/mL | | 0,09 | < 0,1 | 0,35 | 0,02 | 0,35 |
| Nolpaza_C71135_2 | | | 0,09 | < 0,1 | 0,34 | 0,02 | 0,34 |
| Vidējais | | | 0,09 | < 0,1 | 0,34 | 0,02 | 0,34 |
| <i>Prasības</i> | | | Degradācijas produkts A – Ne vairāk par 0,5%; Degradācijas produkts B – Ne vairāk par 0,2%; Degradācijas produkti D+F – Ne vairāk par 1,5%; Ikviens cits degradācijas produkts – Ne vairāk par 0,2%; Summa – Ne vairāk par 2,0 %. | | | | |
| <i>Piezīmes</i> | | | Piemaisījumu summas aprēķinos neņem vērā piemaisījumus, kuru laukumi ir mazāki par references B laukumu (0,1%) Piemaisījuma C relatīvais aiztures laiks pret pamatsmaili sistēmas piemērotības šķīduma hromatogrammā ir 0,70. Piemaisījuma A relatīvais aiztures laiks pret pamatsmaili sistēmas piemērotības šķīduma hromatogrammā ir 0,94. Piemaisījumu D+F relatīvais aiztures laiks pret pamatsmaili sistēmas piemērotības šķīduma hromatogrammā ir 1,10. Piemaisījuma E relatīvais aiztures laiks pret pamatsmaili sistēmas piemērotības šķīduma hromatogrammā ir 1,16. Piemaisījuma B relatīvais aiztures laiks pret pamatsmaili sistēmas piemērotības šķīduma hromatogrammā ir 1,32. | | | | |

Aprēķina piemērs:

$$R_{RRT=1,10} = \frac{62997 \cdot 0,5}{90530} = 0,35 \%$$

S_i – piemaisījumu D+F smailes laukums analizējamā šķīduma hromatogrammā;
 S_{ref} – pamatsmailes laukums salīdzināšanas šķīduma hromatogrammā.

Izstrādātajai metodei sistēmas piemērotības parametri atbilst noteiktajām prasībām pēc ICH vadlīnijas (skat. 3.5. tabulā).

3.5. tabula

Sistēmas piemērotības pārbaude

| Parametrs | Izšķiršana starp pantoprazola smaile un piemaisījumu D+F smaile sistēmas piemērotības šķīdumā | Signāla/trokšņa attiecība pantoprazola smailei salīdzināšanas šķīdumā (b) | Relatīvā standartnovirze pantoprazola smailes laukumiem starp trīs salīdzināšanas šķīduma (a) injekcijām |
|------------------|---|---|--|
| Prasības | $\geq 3,0$ | ≥ 10 | NMT 2,0 % |
| Rezultāts | 6,2 | 233 | 0,29 |

Izvērtējot iegūtos rezultātus no kvantitatīvā satura un piemaisījumu analīzēm, var secināt, ka izstrādātās pagaidu analītiskās noteikšanas metodes ir, iespējams, piemērot pantoprazola liofilizētajam pulverim injekciju šķīduma pagatavošanai.

Izstrādātajām metodēm novērtēja ne tikai sistēmas piemērotības pārbaudi, bet arī robustumu, mainot analītiskās kolonnas, lai novērtētu, vai metodes spēj sniegt stabilus rezultātus, neskatoties uz nelielām parametru izmaiņām, kuras var rasties ikdienas darba gaitā.

Robustumu novērtēja starp trīs analītiskajām kolonnām – *Kromasil C18*, kas ir norādīta metodē, kā arī *Intersil ODS-2* un *Waters Xterra RP18*. Izvērtējot pievienotos hromatogrammu rezultātus 11.-16. pielikumos, var secināt, ka specifiskās zāļu formas analītiskajām noteikšanas metodēm var pielietot arī analītisko kolonnu *Intersil ODS-2*, taču *Waters Xterra RP18* neder ne kvantitatīvā satura, ne piemaisījumu noteikšanai, jo atšķiras pamatsmailes izdalīšanās laiks un nav iespējams detektēt degradācijas produktus.

3.2. Pantoprazola pilotsērijas stabilitātes pētījumu izvērtēšana

Saražotās pantoprazola pilotsērijas, sērijas Nr. 102001T, iegūtie rezultāti parametriem saskaņā ar kvalitātes specifikāciju, ir attēloti 3.6. tabulā.

3.6. tabula

Pantoprazola pilotsērijas analītisko metožu rezultāti

| Nr.p.k. | Specifikācijas rādītāji | Metode | Prasība | Rezultāti |
|---------|-------------------------|--|---|--|
| 1. | Apraksts | Organoleptiski | Balta vai gandrīz balta viendabīga poraina masa | Balta viendabīga poraina masa |
| 2. | Identitāte | A. HPLC (<i>in-house</i>) B. UV spektrs (<i>in-house</i>) | Jāatbilst testiem | Atbilst testiem |
| 3. | Šķīduma raksturojums | Ph.Eur. 2.2.1, Ph.Eur. 2.2.2, <i>metode II</i> | Dzidrs šķīdums, kurš nepārsniedz references šķīdumu B ₅ vai BY ₅ | Dzidrs šķīdums, kurš nepārsniedz references šķīdumu B ₅ vai BY ₅ |
| 4. | pH | Ph.Eur. 2.2.3 | 9,0 – 11,5 | 9,39 |
| 5. | Ūdens saturs | Ph.Eur. 2.5.12 | Ne vairāk par 2,0 % | 0,74 % |
| 6. | Devas viendabīgums | Ph.Eur. 2.9.40 | Ne vairāk par 15,0 % | 6,0 % |
| 7. | Degradācijas produkti | HPLC (<i>in-house</i>) | Degradācijas produkts A Ne vairāk par 0,2 % Degradācijas produkts B Ne vairāk par 0,2 % Degradācijas produkts C Ne vairāk par 0,2 % Ikviens cits degradācijas produkts Ne vairāk par 0,2 % Summa Ne vairāk par 0,8 % | 0,1 - 0,01 0,1 0,2 |
| 8. | Kvantitatīvais saturs | HPLC (<i>in-house</i>) | 95,0 – 105,0 % | 102,2 |

Pantoprazola pilotsērijas UV spektru var apskatīt 17. pielikumā, kur absorbcijas maksimums ir iegūts pie 289 ± 2 nm. Piemaisījumu hromatogrammas uzņēma diviem paralēliem testa šķīdumiem, katru injicējot vienu reizi, kā aprakstīts iepriekšējā sadaļā 2.2 *Analītisko metožu izstrāde* (skat. 18.-19. pielikumus). Kvantitatīvā satura hromatogrammas uzņēma pēc līdzīga principa, proti diviem paralēliem testa šķīdumiem, katru injicējot trīs reizes, kā arī aprakstīts iepriekšējā sadaļā 2.2 *Analītisko metožu izstrāde* (skat. 20.-25. pielikumus). Vidējās vērtības no iegūtajām hromatogrammām ir attiecīgi norādītas 3.6. tabulā. Izvērtējot norādīto tabulu, var secināt, ka pilotsērijas iegūtie rezultāti iekļaujas kvalitātes specifikācijas noteiktajās prasībās. Bakteriālie endotoksīni un sterilitāte tiks izvērtēta farmaceitiskā produkta pilna mēroga partijai.

Apkopojot iegūtos rezultātus pantoprazola pilotsērijai, varu secināt, ka kopumā izvirzītais mērķis šajā maģistra darbā ir sasniegts. Izstrādātā formulācija un liofolizācijas cikls ir piemērojami gatavajam produktam un tos var pielietot pilna mēroga partiju ražošanai, jo analīžu rezultāti iekļaujas noteiktajās prasībās saskaņā ar kvalitātes specifikāciju. No šīs informācijas izriet arī, tas, ka izstrādātās analīžu metodes, kas pamatā tika balstītas uz references produktu, ir piemērotas gatavā produkta analizēšanai, jo apkotie rezultātiem pantoprazola pilotsērijai parāda, ka rezultāti ir ticami un pareizi, jo iekļaujas noteiktajās normās.

Iesāktais projekts pantoprazola izstrādei tiks turpināts ar validācijas sēriju saražošanu, pielietojot lielāka mēroga partijas, kam attiecīgi sekos rutīnas analīzes saskaņā ar kvalitātes specifikāciju un izmantoto metožu validācijas. Arī publikācija⁵⁹ vēsta, ka analītisko metožu validēšana ir nepieciešama, lai galvenokārt pārliecinātos, ka analītiskā metode atbilst visām prasībām un ir piemērota paredzētajam mērķim. Analītiskās metodes validācija sniedz iespēju ne tikai pierādīt, ka noteiktā metode ir atkārojama un to var pielietot citās laboratorijās, citiem analītiķiem, bet arī nodrošināt augstu precizitātes līmeni, veicot stabilitātes pētījumus. Saskaņā ar ICH vadlīniju Q2 (R1) *Validation of analytical procedures: text and methodology*⁶⁰ galvenie validācijas parametri ir pareizība, precizitāte, atkārtamība, mērījumu nenoteiktība, specifiskums (matricas efekts, selektivitāte), detektēšanas robeža, kvantificēšanas robeža, linearitāte un robustums. Vadoties pēc vadlīnijas noteiktajām prasībām, izvēlētajai metodei piemēro nepieciešamos validācijas parametrus. Lai papildus novērtētu kvalitāti, īpašības un transporta apstākļus gatavajam produktam, ir plānots veikt fotostabilitāti, degradācijas pētījumus, termiskā cikla pētījumus, kā arī smago metālu noteikšanu.

SECINĀJUMI

1. Pielietojot izstrādāto liofilizācijas ciklu un formulāciju gatavajam produktam, ir saražota pilotsērija, kuras stabilitātes pētījumu rezultāti iekļaujas kvalitātes specifiskācijas noteiktajos robežlielumos.
2. Ņemot vērā specifisko farmaceitisko zāļu formu, ir veiksmīgi izstrādātas kvantitatīvā satura un piemaisījumu analīžu metodes, balstoties uz aktīvi farmaceitiskās vielas monogrāfiju.
3. Izstrādātā formulācija un liofolizētais cikls ir piemērojami gatavajam produktam un tos var pielietot pilna mēroga partiju ražošanai.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Fitton, A., Wiseman, L. Pantoprazole. A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use in Acid-Related Disorders. **1996**, *51*, 460-482. DOI: 10.2165/00003495-199651030-00012.
2. Product monograph, Pantoprazole for injection. https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00042759.PDF (skatīts 10.01.2021).
3. Hannan A., Well, J. Effects of oral Pantoprazole on 24 hour intragastric acidity and plasma gastrin profiles, *Aliment. Pharmacol. Ther.* **1992**, *6*, 373-380. DOI: 10.1111/j.1365-2036.1992.tb00058.x.
4. Cheer, S. M., Prakash, A., Faulds, D., & Lamb, H. M. *Pantoprazole. Drugs.* **2003**, *63(1)*, 101–133. DOI: 10.2165/00003495-200363010-00006.
5. Huber R, Hartmann, M, Bliesath H, Lühmann R, Steinijans VW, Zech K. Pharmacokinetics of pantoprazole in man. *Internal J Clin Pharmacol Therap.* **1996**, *34*, 185-194.
6. Pue M.A., Laroche J., Meineke I., de Mey C. Pharmacokinetics of Pantoprazole following single intravenous and oral administration to healthy male subjects, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1993**, *44*, 575-578. DOI: 10.1007/BF02440862.
7. Lew EA, Pisegna JR, Starr JA, Soffer EF, Forsmark C, Modlin IM, Walsh FH, Beg M, Bochenek W, Metz DC. Intravenous pantoprazole rapidly controls gastric acid hypersecretion in patients with Zollinger-Ellison syndrome. *Gastroenterology.* **2000**, *118*, 696-704. DOI: 10.1016/s0016-5085(00)70139-9.
8. Cai, Q. An update on the use of pantoprazole as a treatment for gastroesophageal reflux disease. *Clinical and Experimental Gastroenterology.* **2010**, *3*, 11-16. DOI: 10.2147/ceg.s6355.
9. Körner, T., Schütze, K., van Leendert, R. J. M., Fumagalli, I., Costa Neves, B., Bohuschke, M., & Gatz, G. Comparable Efficacy of Pantoprazole and Omeprazole in Patients with Moderate to Severe Reflux Esophagitis. *Digestion.* **2003**, *67*, 6–13. DOI: 10.1159/000070201.
10. Pisegna, J. R. Switching Between Intravenous and Oral Pantoprazole. *Journal of Clinical Gastroenterology.* **2001**, *32(1)*, 27–32. DOI: 10.1097/00004836-200101000-00007.
11. Sandhyarani G, Ramesh alli. Development and Evaluation of Lyophilized Product of Apo-Acetazolamide. *IOSR Journal Of Pharmacy.* **2016**, 48-63.

12. Design of experiments for formulation development. <http://www.pharmtech.com/design-experiments-formulation-development-0?id=&pageID=1&sk=&date=> (skatits 28.12.2020)
13. Cha, J., Gilmor, T., Lane, P., & Ranweiler, J. S. Stability Studies. *Separation Science and Technology*. **2011**, 459–505. DOI: 10.1016/b978-0-12-375680-0.00012-7.
14. Ankit Baheti, Lokesh Kumar, Arvind K. Bansal. Excipients used in lyophilization of small molecules. *Article in Journal of Excipients and Food Chemicals*. **2010**, 41-54.
15. Sougata P., Deepak S., Vikas C. Excipient Selection in Parenteral Formulation Development. *R&D, Emcure Pharmaceuticals Limited*. **2013**, 65-77.
16. Kawasaki, H., Shimanouchi, T., & Kimura, Y. Recent Development of Optimization of Lyophilization Process. *Journal of Chemistry*. **2019**, 1–14. DOI: 10.1155/2019/9502856.
17. Hayes, S. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, volume I and volume II. Twenty-second edition. *Journal of the Medical Library Association: JMLA*. **2014**, 102(3), 220–221. DOI: 10.3163/1536-5050.102.3.016
18. Jeff SJ. Basic Cycle Development Techniques for Lyophilized Products. **2009**, 35, 126-128.
19. Adams GD, Irons LI. Some implications of structural collapse during freeze drying using *Erwinia caratovora* l-asparaginase as a model. *J Chem Biotechnol*. **1993**, 58, 71–76.
20. Lippincott, Williams K. Remington, The Science & practice of pharmacy, Parenteral Preparation, 20th ed. *ISE publication, Philadelphia*. **2000**, 1, 804-819.
21. Searles JA, Carpenter JF, Randolph TW. The ice nucleation temperature determines the primary drying rate of lyophilization for samples frozen on a temperature-controlled shelf. *J Pharm Sci*. **2001**, 90(7), 860–71.
22. Nail SL. et al. Fundamentals of freeze-drying. Development and Manufacture of Protein Pharmaceuticals. *Marcel Dekker*. **2002**, 281–360.
23. Carpenter JF, Pikal MJ, Chang BS and Randolph TW. Rational design of stable lyophilized protein formulations: some practical advice. *Pharm Res*. **1997**, 14, 969-975.
24. Craig DM, Royall PG, Kett VL and Hopton ML. The relevance of the amorphous state to pharmaceutical dosage forms: glassy drugs and freeze dried systems. *International journal of pharmaceutical sciences*. **1999**, 179-207.
25. Yoshioka S, Aso Y and Kojima S. The effect of excipients on the molecular mobility of lyophilized formulations, as measured by glass transition temperature and NMR relaxation based critical mobility temperature. *Pharm Res*. **1999**, 135-140.
26. Wang W. Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals. *International Journal of pharmaceuticals*. **2000**, 52, 1-60.

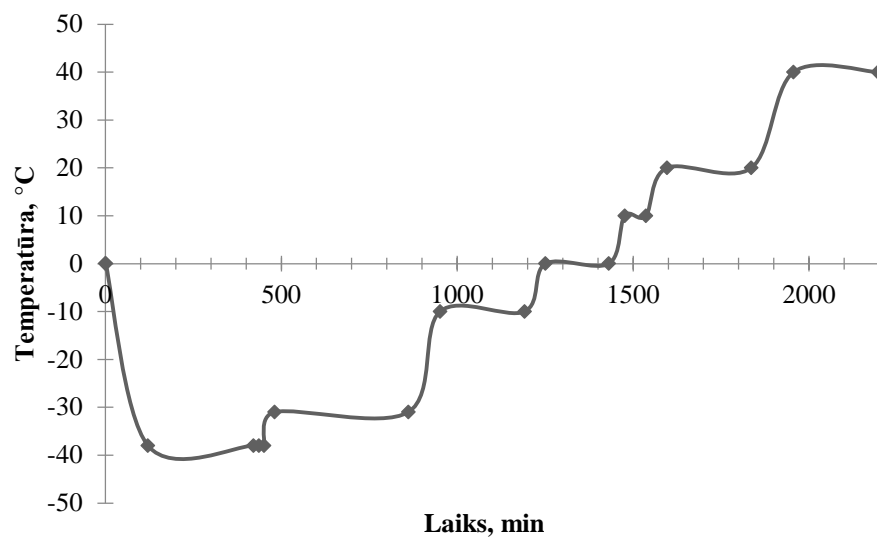
27. Jennings TA. Effect of formulation on lyophilization. *Asian journal of pharmaceutical science*. **1997**, 54-63. European Pharmacopoeia online, 10.5, **2021**.
28. Chemistry. LibreTexts. *Chromatography*.
[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Instrumental_Analysis/Chromatography](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Instrumental_Analysis/Chromatography) (skatīts 03.06.2021)
29. Nikolin B., Imamović B., Medanhodžić-Vuk S., Sober M. High performance liquid chromatography in pharmaceutical analyses. **2004**, 4(2), 5-9. DOI: 10.17305/bjbms.2004.3405.
30. Hassan B. A. R., HPLC Uses and Importance in the Pharmaceutical Analysis and Industrial Field. *Pharmaceutica Analytica Acta*. **2012**. DOI: 10.4172/2153-2435.1000e133.
31. Schweiggert U, Kammerer DR, Carle R, Schieber A. Characterization of carotenoids and carotenoid esters in red pepper pods (*Capsicum annuum* L.) by high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. **2005**, 19, 2617–2628. DOI: 10.1002/rcm.2104.
32. European Pharmacopoeia online, 10.5, **2021**.
33. Badwan, A. A., Nabulsi, L. N., Omari, M. M. A., Daraghmeh, N. H., Ashour, M. K., Abdoh, A. M., & Jaber, A. M. Y. Pantoprazole Sodium. *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*. **2002**, 213–259. DOI: 10.1016/s1075-6280(02)29008-4.
34. Yari, A., Zolali, A., & Karimian, K. On the Mechanism of Formation and the Synthesis of Pantoprazole Sodium Sesquihydrate-Related Compound E: A Phantom Chemical Entity. *ACS Omega*. **2019**, 4(1), 737–744. DOI: 10.1021/acsomega.8b00845.
35. Awasthi, A. K., Kumar, L., Tripathi, P., Golla, M., Aga, M. A., Reddy, C. S., & Kumar, P. Environmentally Benign and Facile Process for the Synthesis of Pantoprazole Sodium Sesquihydrate: Phase Transformation of Pantoprazole Sodium Heterosolvate to Pantoprazole Sodium Sesquihydrate. *ACS Omega*. **2017**, 2(9), 5460–5469. DOI: 10.1021/acsomega.7b00743.
36. Bouin, A.-S., Wierer, M. Quality standards of the European Pharmacopoeia. *Journal of Ethnopharmacology*. **2014**, 158, 454–457. DOI: 10.1016/j.jep.2014.07.020.
37. Validation – an important tool of GMP. <https://www.pharmatutor.org/articles/information-on-validation-important-tools-of-gmp> (skatīts 28.12.2020)
38. Chongprasert, S. Successful generic drug product development: From research to marketing approval. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2016**, 11(1), 35–36. DOI: 10.1016/j.ajps.2015.10.023.

39. Pramod K., Tahir M. A., Charoo N. A., Ansari S. H., Ali J. Pharmaceutical product development: A quality by design approach, **2016**, 6(3), 129-138. DOI: 10.4103/2230-973X.187350.
40. Kā nepārmaksāt par zālēm? Informācija iedzīvotājiem. <https://www.zva.gov.lv/sites/default/files/2018-05/ZVA%20buklets%20pacientiem.pdf> (skatīts 03.06.2021)
41. Pharmaceutical Development of Multisource (Generic) Finished Pharmaceutical Products – Points to Consider. *WHO Technical Report Series, Annex 3*. **2011**, 1-29.
42. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-6-test-procedures-acceptance-criteria-new-drug-substances-new-drug-products-chemical_en.pdf (skatīts 28.12.2020)
43. Matejtschuk P., Duru C., Malik K., Ezeajughi E., Gray E., Raut S., Mawas F. Use of Thermogravimetric Analysis for Moisture Determination in Difficult Lyophilized Biological Samples. **2016**, 7, 260-265. DOI: 10.4236/ajac.2016.73023.
44. Frink, L. A., Weatherly, C. A., Armstrong, D. W. Water determination in active pharmaceutical ingredients using ionic liquid headspace gas chromatography and two different detection protocols. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2014**, 94, 111–117. DOI: 10.1016/j.jpba.2014.01.034.
45. Lui F., Jiang Y. Room temperature ionic liquid as matrix medium for the determination of residual solvents in pharmaceuticals by static headspace gas chromatography. *Journal of Chromatography*. **2007**, 1167(1), 116-119. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.08.034
46. Huang J-Q, Hunt RH. Pharmacological and pharmacodynamic essentials of H₂-receptor antagonists and proton pump inhibitors for the practising physician. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. **2001**, 15(3), 355–70. DOI: 10.1053/bega.2001.0184
47. ICH Topic Q3B (R2) Impurities in New Drug Products. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-3-b-r2-impurities-new-drug-products-step-5_en.pdf (skatīts 03.06.2021)
48. Zāļu apraksts Nolpaza 40 mg pulveris injekciju šķīduma pagatavošanai <https://www.zva.gov.lv/zvais/zalu-registrs/en/info/14-0109?r=L3p2YWlzL3phbHUtcMvNaXN0cnMvZW4vP3E9UGFudG9wcmF6b2x1bSZhbXA7aXNzPTE> (skatīts 03.06.2021)

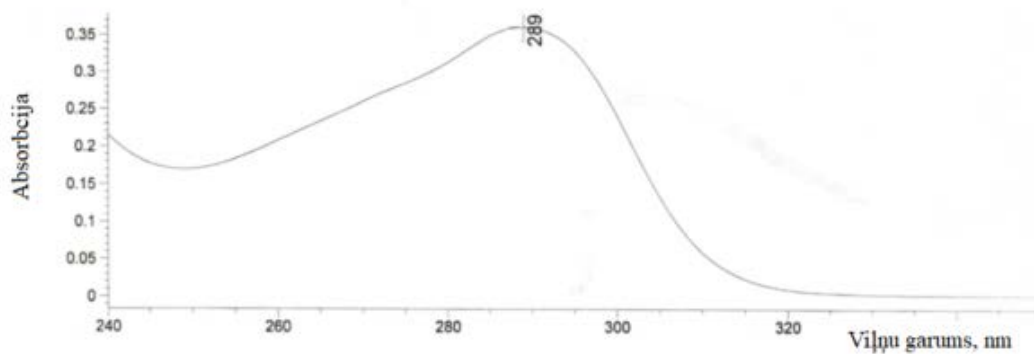
49. Information Leaflet Ph.Eur. Reference Standard. *Pantoprazole for system suitability CRS batch 8*. https://crs.edqm.eu/db/4DCGI/db/4DCGI/leaflet?leaflet=Y0001001_8 (skatits 03.06.2021)
50. César, I. da C., Nogueira, F. H. A., & Pianetti, G. A. Comparison of HPLC, UV spectrophotometry and potentiometric titration methods for the determination of lumefantrine in pharmaceutical products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2008**, *48(1)*, 223–226. DOI: 10.1016/j.jpba.2008.05.006.
51. Ph.Eur. 10.5, 2.2.46. *Chromatographic separation techniques*. <https://pheur.edqm.eu/app/10-5/content/10-5/20246E.htm?highlight=on&terms=2.2.46> (skatits 03.06.2021)
52. Bhaskara, B. L., Anil Kumar, U. R., & Basavaiah, K. Sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of pantoprazole sodium in human urine. *Arabian Journal of Chemistry*. **2011**, *4(2)*, 163–168. DOI: 10.1016/j.arabjc.2010.06.033.
53. Patel, B. H., Suhagia, B. N., Patel, M. M., & Patel, J. R. Determination of Pantoprazole, Rabeprazole, Esomeprazole, Domperidone and Itopride in Pharmaceutical Products by Reversed Phase Liquid Chromatography Using Single Mobile Phase. *Chromatographia*. **2007**, *65(11-12)*, 743–748. DOI: 10.1365/s10337-007-0220-z.
54. Wahbi, A.-A. M., Abdel-Razak, O., Gazy, A. A., Mahgoub, H., & Moneeb, M. S. Spectrophotometric determination of omeprazole, lansoprazole and pantoprazole in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2002**, *30(4)*, 1133–1142. DOI: 10.1016/S0731-7085(02)00464-8.
55. Moussa, B. A., El-Kady, E. F., Mohamed, M. F., & Youssef, N. F. Greener thin-layer chromatographic solvents for the determination of pantoprazole sodium sesquihydrate, metronidazole and clarithromycin in pharmaceutical formulations used as triple therapy in Helicobacter infection. *JPC - Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*. **2017**, *30(6)*, 481–487. DOI: 10.1556/1006.2017.30.6.4.
56. Guan, J., Yan, F., Shi, S., & Wang, S. Optimization and validation of a new CE method for the determination of pantoprazole enantiomers. *ELECTROPHORESIS*. **2012**, *33(11)*, 1631–1636. DOI: 10.1002/elps.201100650.
57. Mamun R. Performance Evaluation of Different Brands of Pantoprazole Tablets. **2014**, 1-65.
58. Johnson, C. E. Stability of pantoprazole in 0.9% sodium chloride injection in polypropylene syringes. *American Journal of Health-System Pharmacy*. **2005**, *62(22)*, 2410–2412. DOI: 10.2146/ajhp050132.

59. Peters, F. T., Drummer, O. H., Musshoff, F. Validation of new methods. *Forensic Science International*. **2007**, *165*(2-3), 216–224. DOI: 10.1016/j.forsciint.2006.05.021.
60. ICH Topic Q2 (R1). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf (skatīts 03.06.2021)

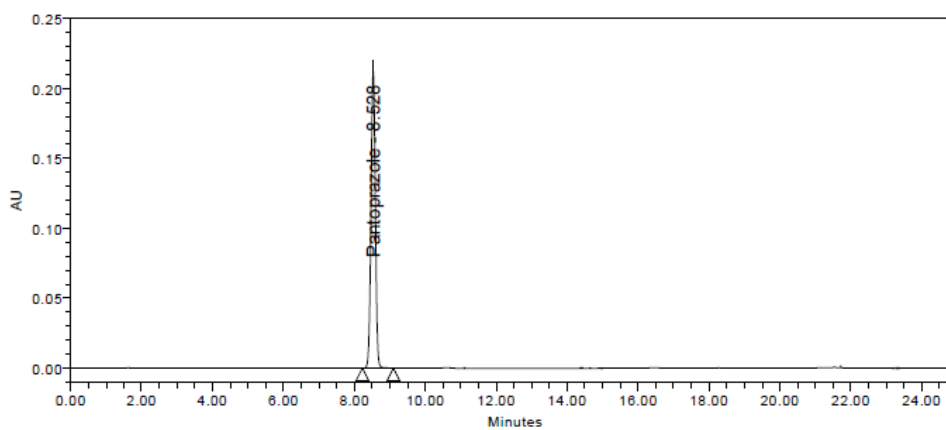
PIELIKUMI



1.pielikums Grafiskais attēlojums izstrādātajam liofilizācijas ciklam



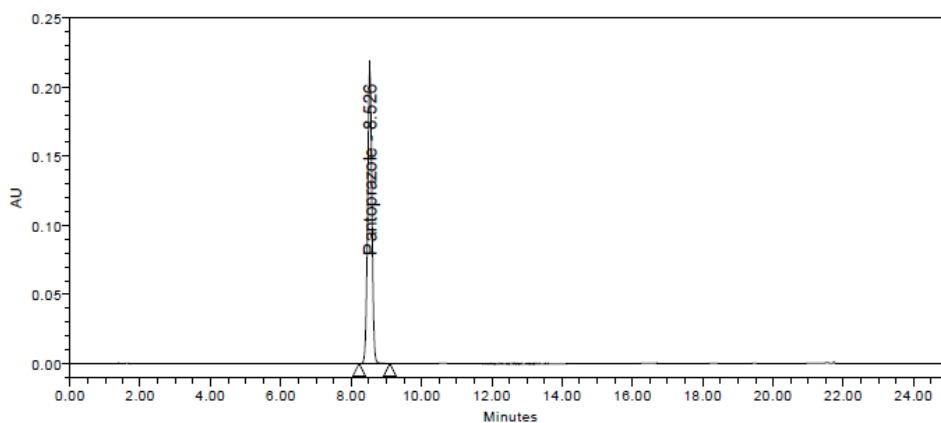
2.pielikums Nolpaza 40 mg UV spektrs



Peak Results

| | Name | RT | Area | Height | Amount | Units | Symmetry Factor | EP Plate Count | Int Type | Calibration Id |
|---|--------------|-------|---------|--------|--------|-------|-----------------|----------------|----------|----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.528 | 1808447 | 212472 | 97.592 | % | 1.0 | 23380 | BB | 1843 |

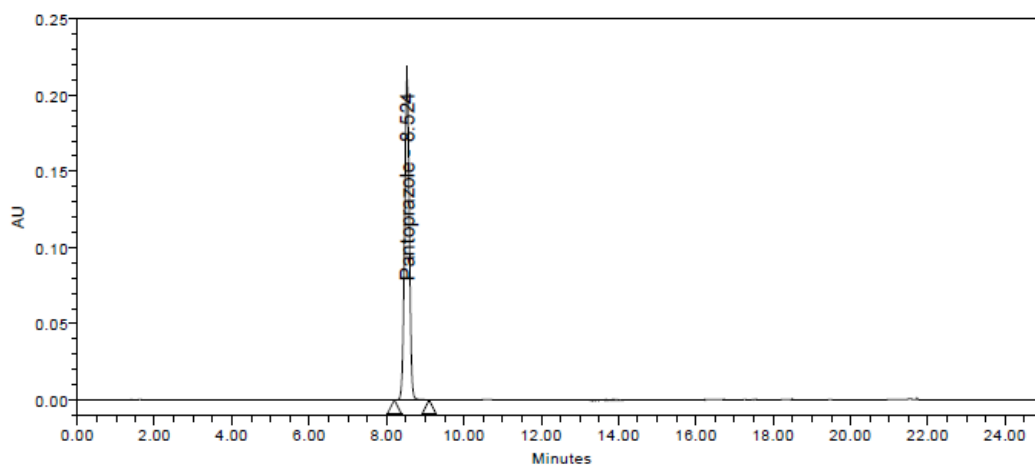
3.pielikums *Nolpaza_C71135_1 pirmā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai*



Peak Results

| | Name | RT | Area | Height | Amount | Units | Symmetry Factor | EP Plate Count | Int Type | Calibration Id |
|---|--------------|-------|---------|--------|--------|-------|-----------------|----------------|----------|----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.526 | 1809142 | 212170 | 97.630 | % | 1.0 | 23282 | BB | 1843 |

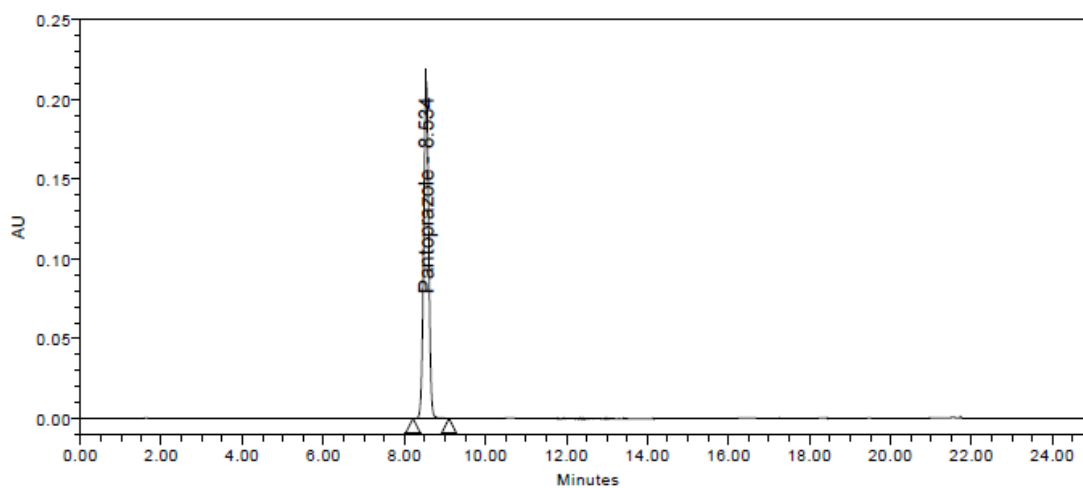
4.pielikums *Nolpaza_C71135_1 otrā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai*



Peak Results

| | Name | RT | Area | Height | Amount | Units | Symmetry Factor | EP Plate Count | Int Type | Calibration Id |
|---|--------------|-------|---------|--------|--------|-------|-----------------|----------------|----------|----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.524 | 1810182 | 211623 | 97.686 | % | 1.0 | 23130 | BB | 1843 |

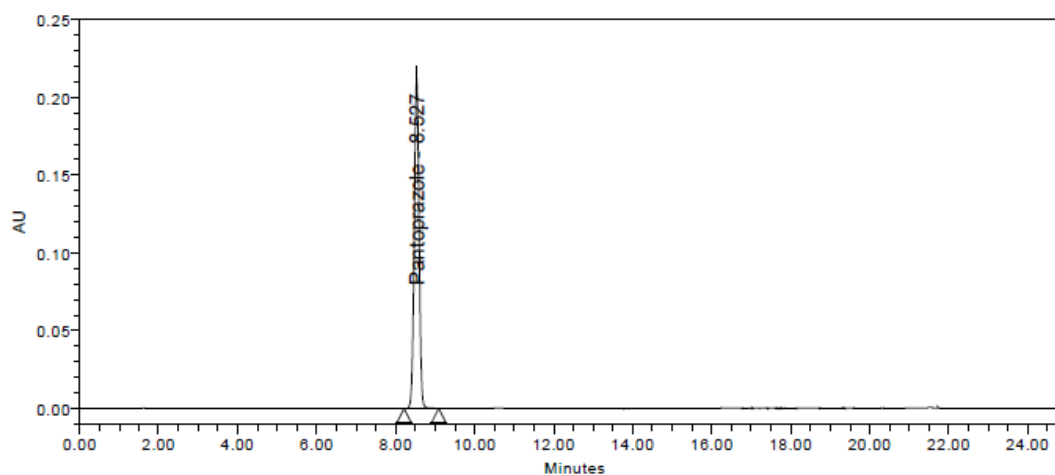
5.pielikums Nolpaza_C71135_1 trešā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai



Peak Results

| | Name | RT | Area | Height | Amount | Units | Symmetry Factor | EP Plate Count | Int Type | Calibration Id |
|---|--------------|-------|---------|--------|--------|-------|-----------------|----------------|----------|----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.534 | 1809500 | 211721 | 97.649 | % | 1.0 | 23205 | BB | 1843 |

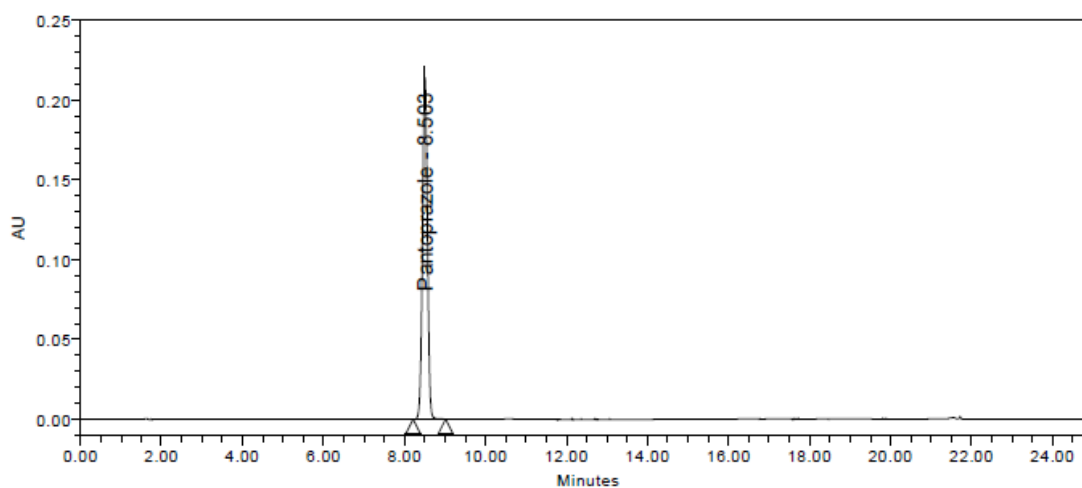
6.pielikums Nolpaza_C71135_2 pirmā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai



Peak Results

| | Name | RT | Area | Height | Amount | Units | Symmetry Factor | EP Plate Count | Int Type | Calibration Id |
|---|--------------|-------|---------|--------|--------|-------|-----------------|----------------|----------|----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.527 | 1809963 | 212664 | 97.674 | % | 1.0 | 23374 | BB | 1843 |

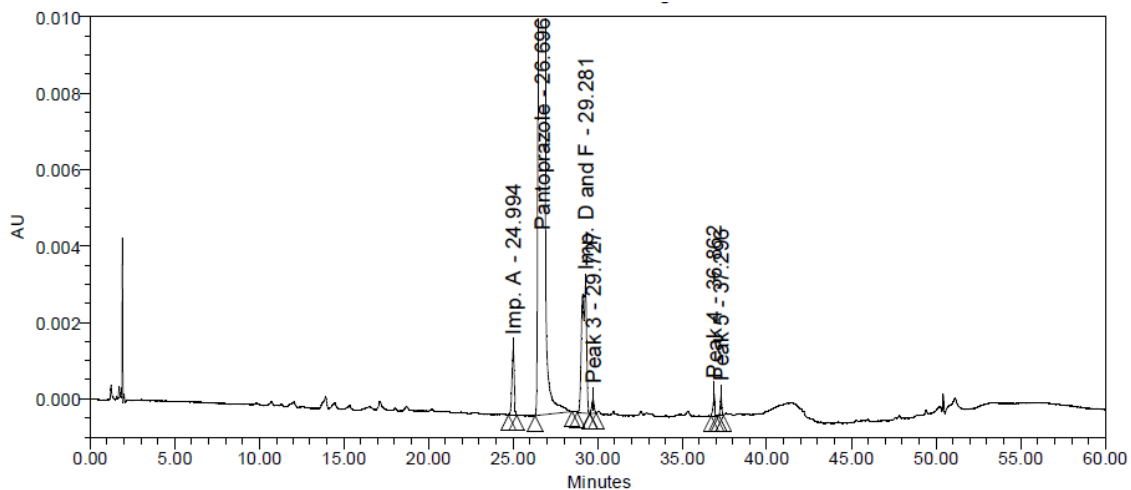
7.pielikums Nolpaza_C71135_2 otrā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai



Peak Results

| | Name | RT | Area | Height | Amount | Units | Symmetry Factor | EP Plate Count | Int Type | Calibration Id |
|---|--------------|-------|---------|--------|--------|-------|-----------------|----------------|----------|----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.503 | 1815081 | 213997 | 97.950 | % | 1.0 | 23308 | BB | 1843 |

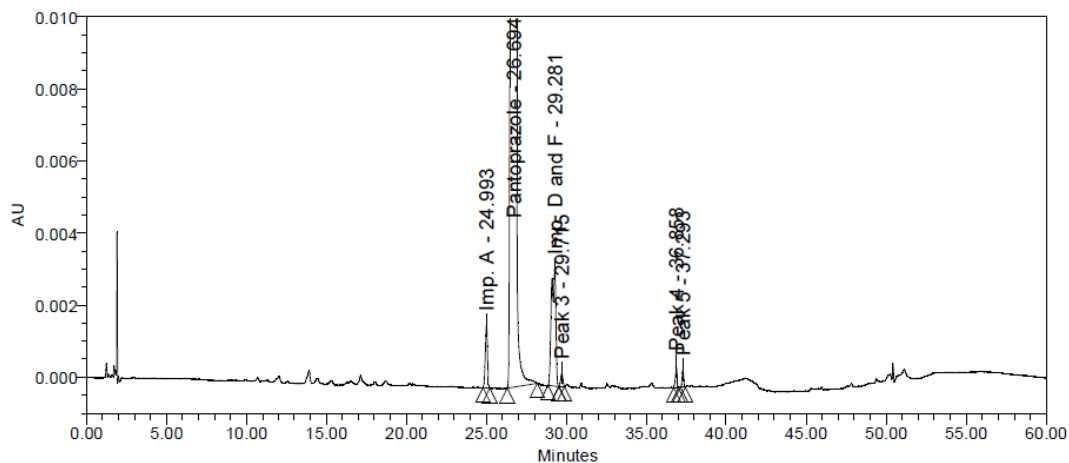
8.pielikums Nolpaza_C71135_2 trešā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai



Peak Results

| | Name | RT | RT Ratio | Area | Height | Amount | Units | Symmetry Factor | EP s/n | EP Plate Count | Int Type |
|-----|--------------|--------|----------|----------|---------|--------|-------|-----------------|--------|----------------|----------|
| 1 | Imp. A | 24.994 | 0.94 | 16311 | 1704 | 0.09 | % | 1.0 | 203 | 157266 | bB |
| 2 | Pantoprazole | 26.696 | | 18026014 | 1832663 | | | 0.9 | 219060 | 165251 | Bb |
| 3 | Imp. D and F | 29.281 | 1.10 | 62997 | 3339 | 0.35 | % | 0.7 | 398 | 43086 | bb |
| 4 | Peak 3 | 29.727 | 1.11 | 3435 | 375 | 0.02 | % | 0.9 | 44 | 236331 | bb |
| 5 | Peak 4 | 36.862 | 1.38 | 4138 | 600 | 0.02 | % | 0.9 | 71 | 644618 | BB |
| 6 | Peak 5 | 37.296 | 1.40 | 3274 | 500 | 0.02 | % | 1.0 | 59 | 720941 | bb |
| Sum | | | | | | 0.50 | | | | | |

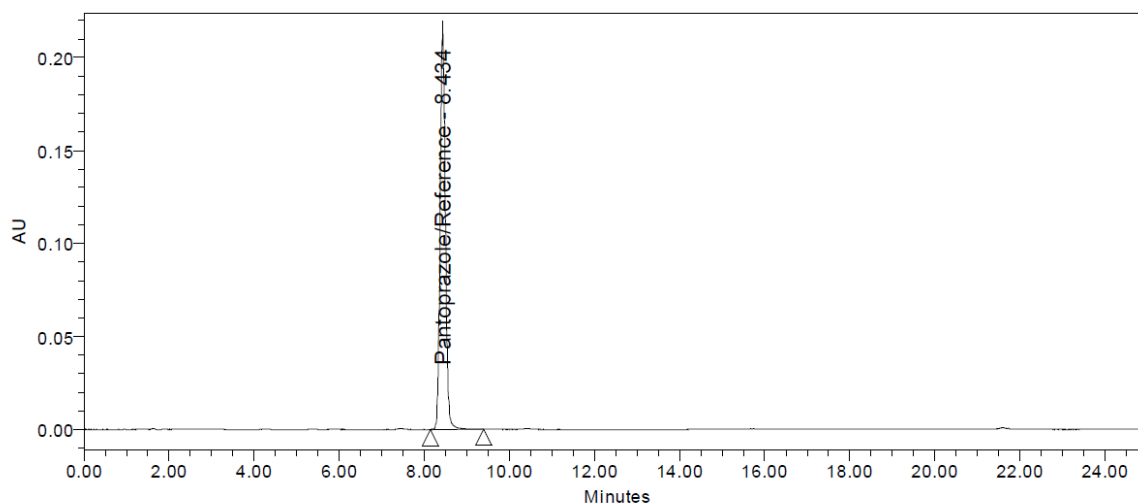
9.pielikums Nolpaza_C71135_1 injekcija piemaisījumu noteikšanai



Peak Results

| | Name | RT | RT Ratio | Area | Height | Amount | Units | Symmetry Factor | EP s/n | EP Plate Count | Int Type |
|-----|--------------|--------|----------|----------|---------|--------|-------|-----------------|--------|----------------|----------|
| 1 | Imp. A | 24.993 | 0.94 | 16319 | 1733 | 0.09 | % | 1.0 | 170 | 161904 | BB |
| 2 | Pantoprazole | 26.694 | | 18126392 | 1847948 | | | 0.9 | 182753 | 166057 | Bb |
| 3 | Imp. D and F | 29.281 | 1.10 | 60549 | 3251 | 0.33 | % | 0.7 | 320 | 43460 | Bb |
| 4 | Peak 3 | 29.715 | 1.11 | 3479 | 378 | 0.02 | % | 0.9 | 36 | 233004 | bb |
| 5 | Peak 4 | 36.858 | 1.38 | 4145 | 601 | 0.02 | % | 1.0 | 58 | 653635 | Bb |
| 6 | Peak 5 | 37.293 | 1.40 | 3328 | 492 | 0.02 | % | 1.0 | 48 | 687807 | bb |
| Sum | | | | | | 0.49 | | | | | |

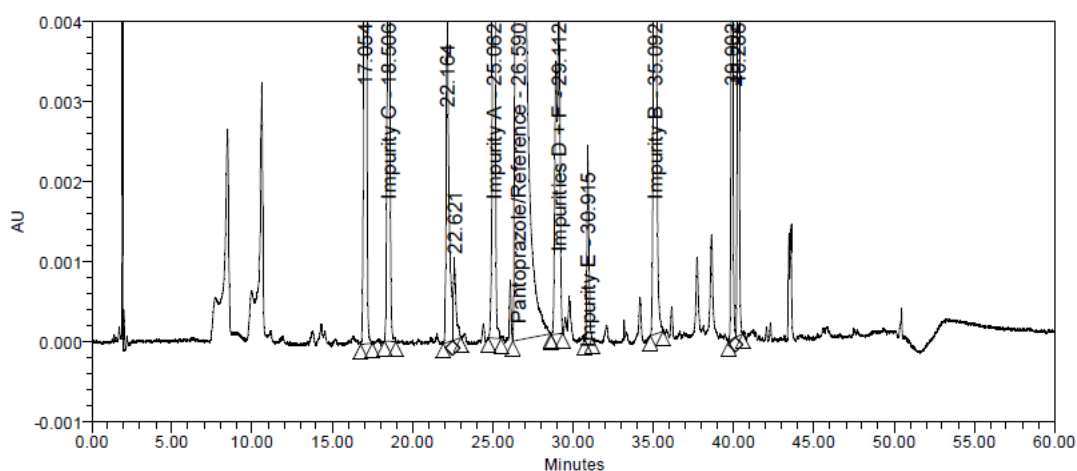
10.pielikums Nolpaza_C71135_2 injekcija piemaisījumu noteikšanai



Peak Results

| | Name | RT | Area | Height | Symmetry Factor | EP Plate Count | Int Type |
|---|------------------------|-------|---------|--------|-----------------|----------------|----------|
| 1 | Pantoprazole/Reference | 8.434 | 1855034 | 213121 | 1.1 | 22562 | BB |

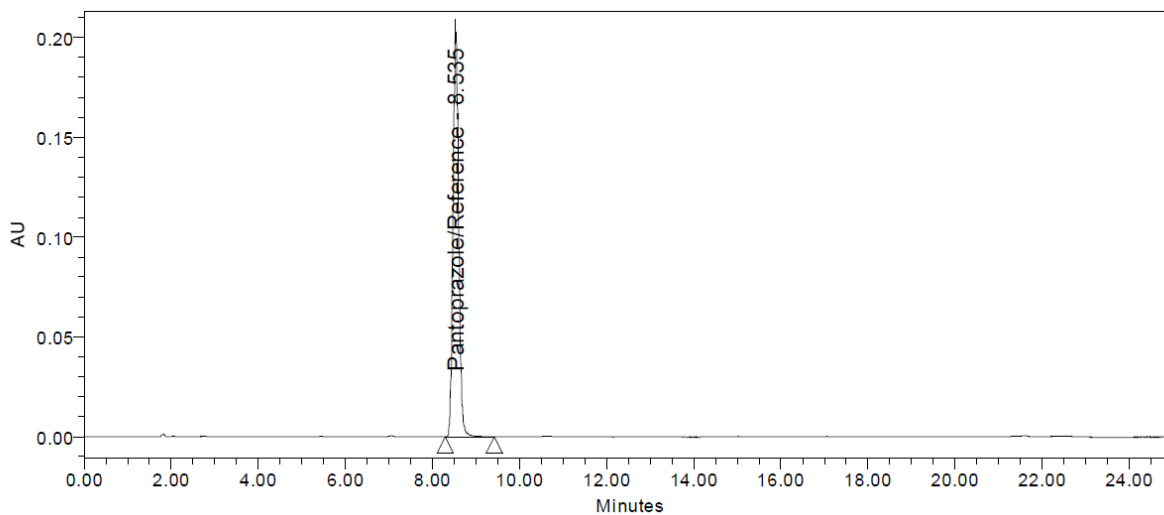
11.pielikums *Kvantitatīvā satūra noteikšana ar analītisko kolonnu Kromasil C18*



Peak Results

| | Name | RT | RT Ratio | Area | Height | Symmetry Factor | EP s/n | EP Plate Count | Int Type | Resolution |
|---|------------------------|--------|----------|----------|---------|-----------------|--------|----------------|----------|------------|
| 1 | | 17.054 | | 156926 | 16528 | 1.0 | 750 | 74254 | bb | |
| 2 | Impurity C | 18.506 | 0.70 | 72865 | 6740 | 1.0 | 305 | 68228 | bb | 5.5 |
| 3 | | 22.164 | | 53075 | 3911 | | 177 | 75346 | bv | 12.1 |
| 4 | | 22.621 | | 11748 | 897 | | 40 | | vb | |
| 5 | Impurity A | 25.062 | 0.94 | 116508 | 12411 | 0.9 | 563 | 175727 | bb | |
| 6 | Pantoprazole/Reference | 26.590 | | 24214720 | 2032650 | 1.1 | 92387 | 94830 | bb | 5.2 |
| 7 | Impurities D + F | 29.112 | 1.09 | 75084 | 4240 | 0.7 | 192 | 43107 | bb | 5.6 |
| 8 | Impurity E | 30.915 | 1.16 | 18990 | 2277 | 1.2 | 103 | 329087 | bb | 4.7 |
| 9 | Impurity B | 35.092 | 1.32 | 119721 | 10343 | 1.1 | 469 | 225460 | bb | 16.4 |

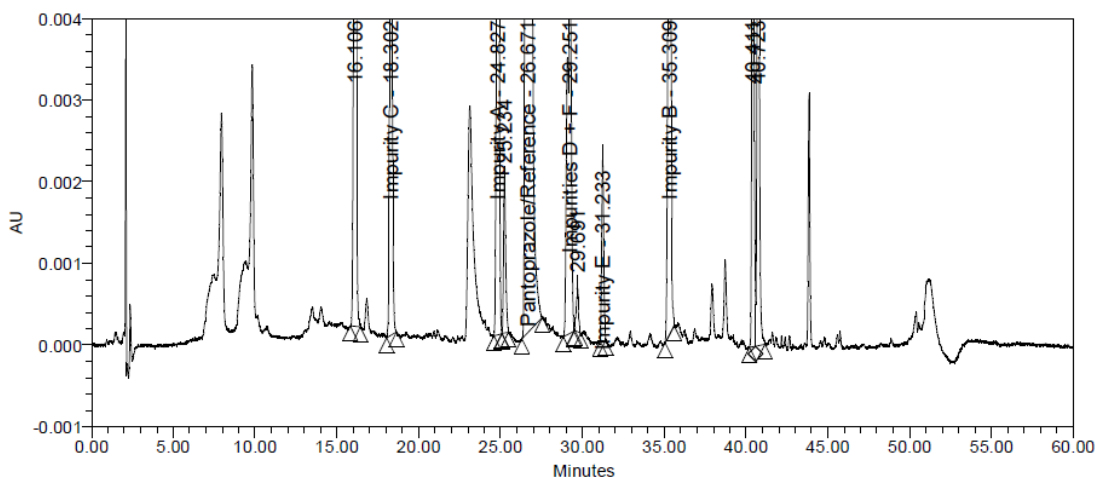
12.pielikums *Piemaisījumu noteikšana ar analītisko kolonnu Kromasil C18*



Peak Results

| | Name | RT | Area | Height | Symmetry Factor | EP Plate Count | Int Type |
|---|------------------------|-------|---------|--------|-----------------|----------------|----------|
| 1 | Pantoprazole/Reference | 8.535 | 1856983 | 202922 | 1.1 | 20667 | bb |

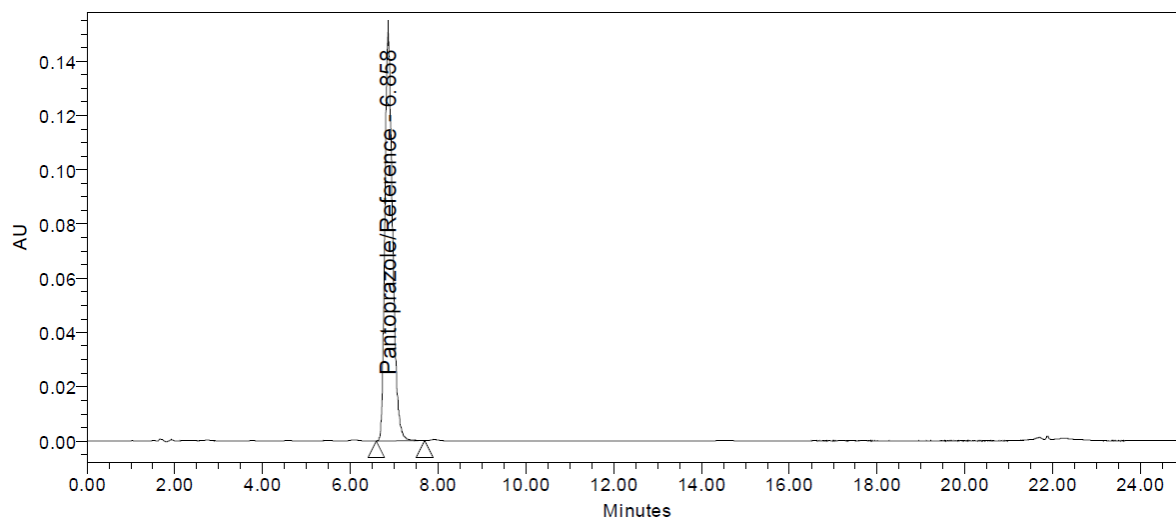
13.pielikums Kvantitatīvā satūra noteikšana ar analītisko kolonnu Intersil ODS-2



Peak Results

| | Name | RT | RT Ratio | Area | Height | Symmetry Factor | EP s/n | EP Plate Count | Int Type | Resolution |
|---|------------------------|--------|----------|----------|---------|-----------------|--------|----------------|----------|------------|
| 1 | | 16.106 | | 173787 | 18624 | 1.0 | 774 | 69103 | bb | |
| 2 | Impurity C | 18.302 | 0.69 | 78891 | 7389 | 1.1 | 306 | 67919 | bb | 8.4 |
| 3 | Impurity A | 24.827 | 0.93 | 125440 | 13325 | 1.1 | 554 | 158444 | bb | 24.7 |
| 4 | | 25.234 | | 16686 | 1903 | 1.4 | 78 | 204517 | bb | 1.7 |
| 5 | Pantoprazole/Reference | 26.671 | | 24267478 | 2147309 | 1.1 | 89355 | 117660 | bb | 5.4 |
| 6 | Impurities D + F | 29.251 | 1.10 | 76311 | 4434 | 0.8 | 183 | 47371 | bb | 6.1 |
| 7 | | 29.691 | | 5221 | 543 | 1.0 | 22 | 197863 | bb | 1.1 |
| 8 | Impurity E | 31.233 | 1.17 | 19014 | 2275 | 1.1 | 94 | 312220 | bb | 6.3 |
| 9 | Impurity B | 35.309 | 1.32 | 134547 | 12188 | 1.0 | 506 | 234042 | bb | 15.9 |

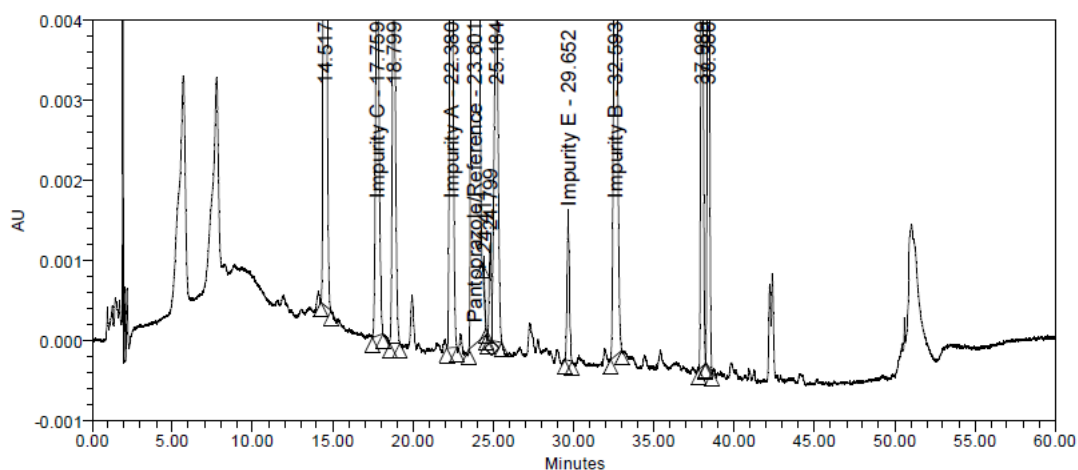
14.pielikums Piemaisījumu noteikšana ar analītisko kolonnu Intersil ODS-2



Peak Results

| | Name | RT | Area | Height | Symmetry Factor | EP Plate Count | Int Type |
|---|------------------------|-------|---------|--------|-----------------|----------------|----------|
| 1 | Pantoprazole/Reference | 6.858 | 1870557 | 150308 | 1.3 | 7321 | bB |

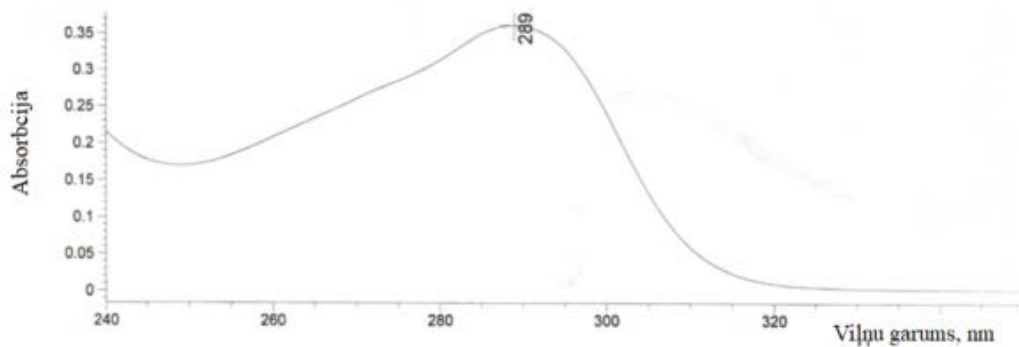
15.pielikums *Kvantitatīvā satura noteikšana ar analītisko kolonnu Waters Xterra RP18*



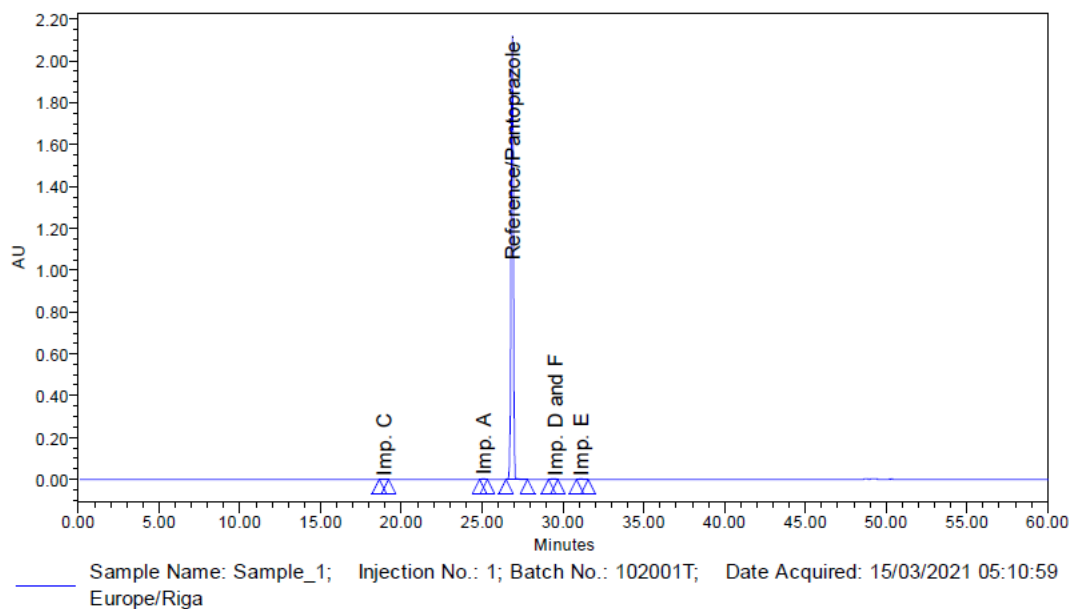
Peak Results

| | Name | RT | RT Ratio | Area | Height | Symmetry Factor | EP s/n | EP Plate Count | Int Type | Resolution |
|---|------------------------|--------|----------|----------|---------|-----------------|--------|----------------|----------|------------|
| 1 | | 14.517 | | 172154 | 13795 | 1.1 | 504 | 30946 | bb | |
| 2 | Impurity C | 17.759 | 0.75 | 75986 | 5417 | 1.1 | 197 | 36852 | bb | 9.3 |
| 3 | | 18.799 | | 74800 | 6019 | 1.2 | 220 | 54352 | bb | 3.0 |
| 4 | Impurity A | 22.380 | 0.94 | 120051 | 9626 | 1.2 | 352 | 74807 | bb | 11.1 |
| 5 | Pantoprazole/Reference | 23.801 | | 24811499 | 1773448 | 1.3 | 64968 | 59428 | bb | 4.0 |
| 6 | | 24.411 | | 2134 | 313 | | 10 | | tt | |
| 7 | | 24.799 | | 11058 | 1190 | | 43 | 127324 | bv | |
| 8 | | 25.184 | | 74112 | 4357 | | 159 | 45741 | vb | 1.0 |
| 9 | Impurity E | 29.652 | 1.25 | 19038 | 1741 | 1.1 | 63 | 163819 | bb | 11.7 |

16.pielikums *Piemaisījumu noteikšana ar analītisko kolonnu Waters Xterra RP18*



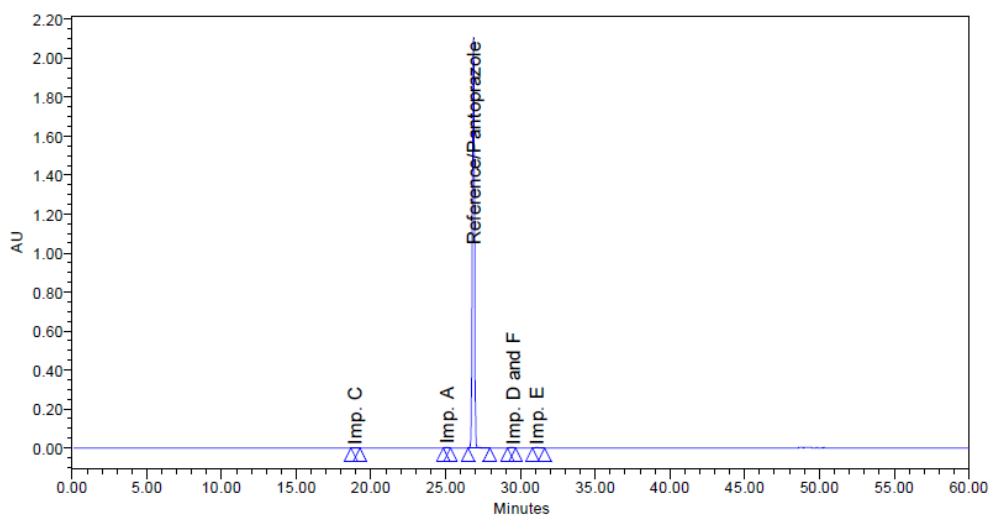
17.pielikums *Pantoprazola pilotsērijas UV spektrs*



Peak Results

| | Name | RT | RT Ratio | Area | Result | Result Average | Units | Resolution | EP Plate Count | Symmetry Factor | EP s/n |
|---|------------------------|--------|----------|----------|--------|----------------|-------|------------|----------------|-----------------|--------|
| 1 | Impurity_SUM | | | 20984 | 0.00 | 0.00 | | | | | |
| 2 | Imp. C | 18.896 | 0.703 | 4592 | 0.01 | 0.00 | % | | 64149 | 1.0 | 127 |
| 3 | Imp. A | 25.084 | 0.934 | 19553 | 0.10 | 0.10 | % | 22.7 | 163576 | 1.0 | 657 |
| 4 | Reference/Pantoprazole | 26.861 | | 20345589 | 0.00 | 0.00 | % | 7.1 | 180192 | 1.0 | 669610 |
| 5 | Imp. D and F | 29.497 | 1.098 | 10331 | 0.05 | 0.00 | % | 6.5 | 43912 | 0.7 | 176 |
| 6 | Imp. E | 31.101 | 1.158 | 16392 | 0.08 | 0.00 | % | 4.0 | 287978 | 1.5 | 477 |

18.pielikums *Pantoprazola pilotsērijas pirmā parauga injekcija piemaisījumu noteikšanai*

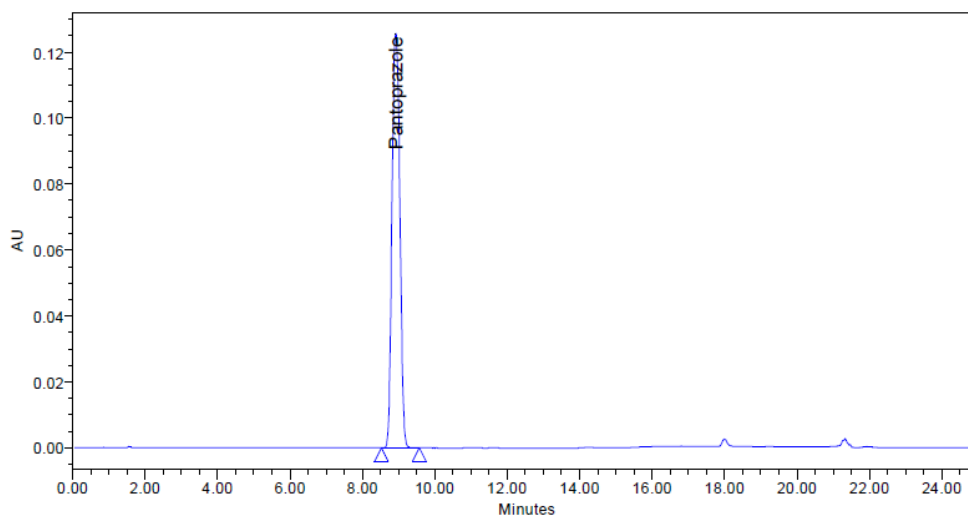


Sample Name: Sample_2; Injection No.: 1; Batch No.: 102001T; Date Acquired: 15/03/2021 06:11:35
Europe/Riga

Peak Results

| | Name | RT | RT Ratio | Area | Result | Result Average | Units | Resolution | EP Plate Count | Symmetry Factor | EP s/n |
|---|------------------------|--------|----------|----------|--------|----------------|-------|------------|----------------|-----------------|--------|
| 1 | Impurity_SUM | | | 21300 | 0.00 | 0.00 | | | | | |
| 2 | Imp. C | 18.917 | 0.704 | 4799 | 0.01 | 0.00 | % | | 65970 | 1.0 | 147 |
| 3 | Imp. A | 25.075 | 0.934 | 19562 | 0.10 | 0.10 | % | 22.7 | 162317 | 1.0 | 720 |
| 4 | Reference/Pantoprazole | 26.855 | | 20265674 | 0.00 | 0.00 | % | 7.1 | 178900 | 1.0 | 729794 |
| 5 | Imp. D and F | 29.489 | 1.098 | 10222 | 0.05 | 0.00 | % | 6.5 | 43954 | 0.7 | 192 |
| 6 | Imp. E | 31.088 | 1.158 | 16501 | 0.08 | 0.00 | % | 4.0 | 287963 | 1.5 | 523 |

19.pielikums *Pantoprazola pilotsērijas otrā parauga injekcija piemaisījumu noteikšanai*

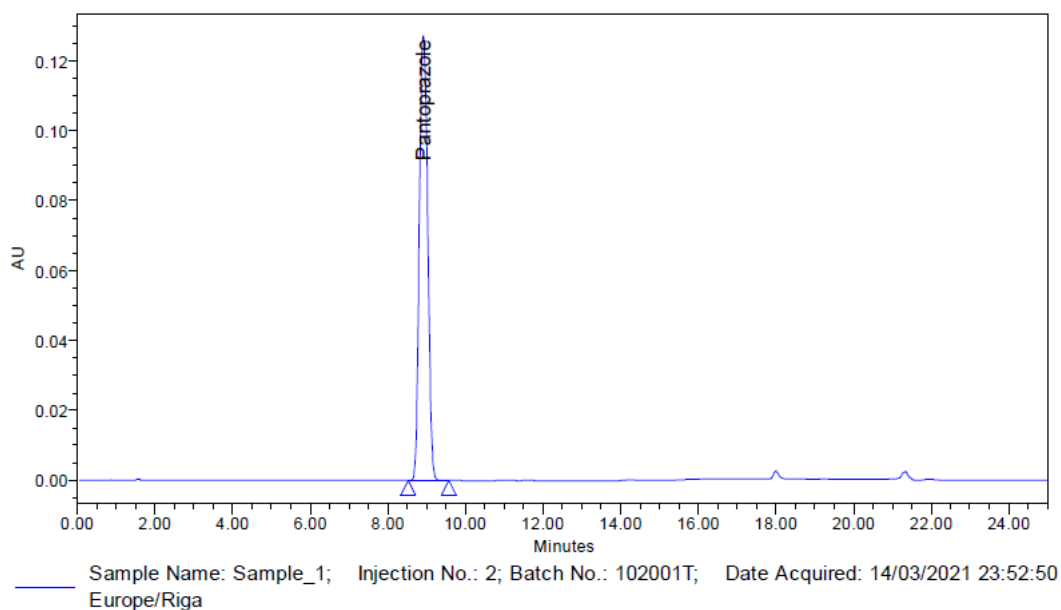


Sample Name: Sample_1; Injection No.: 1; Batch No.: 102001T; Date Acquired: 14/03/2021 23:27:13
Europe/Riga

Peak Results

| | Name | RT | Area | Result | Result Average | Units | EP Plate Count | Symmetry Factor |
|---|--------------|-------|---------|--------|----------------|-------|----------------|-----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.922 | 1890183 | 101.66 | 102.19 | % | 7530 | 1.1 |

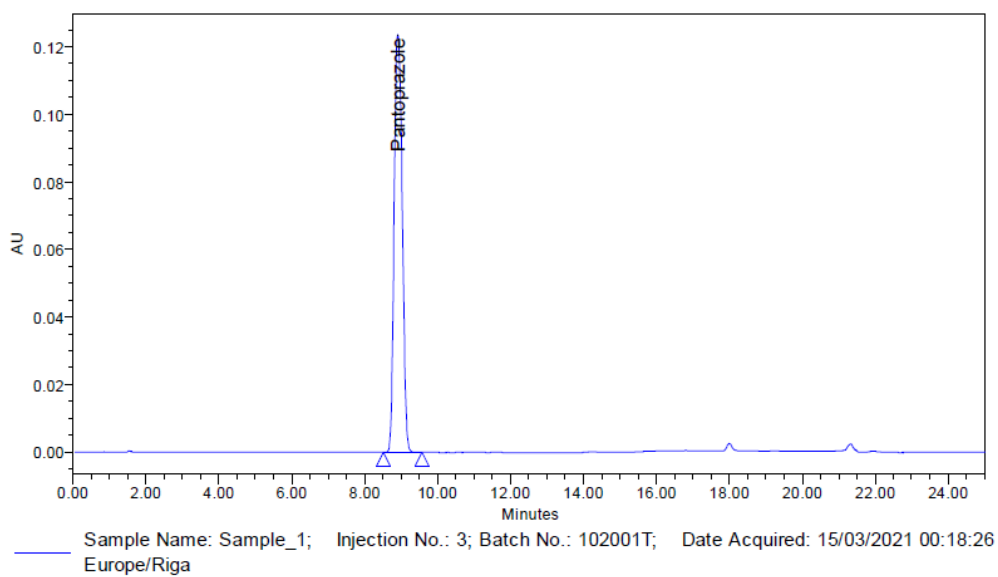
20.pielikums *Pantoprazola pilotsērijas pirmā parauga, pirmā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai*



Peak Results

| | Name | RT | Area | Result | Result Average | Units | EP Plate Count | Symmetry Factor |
|---|--------------|-------|---------|--------|----------------|-------|----------------|-----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.915 | 1891591 | 101.74 | 102.20 | % | 7683 | 1.1 |

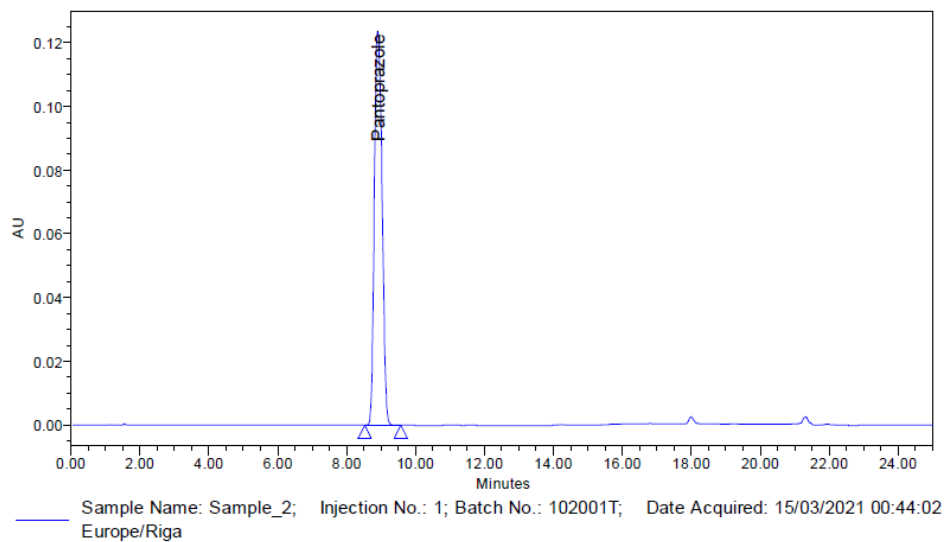
21.pielikums *Pantoprazola pilotsērijas pirmā parauga, otrā injekcija kvantitatīvā saturā noteikšanai*



Peak Results

| | Name | RT | Area | Result | Result Average | Units | EP Plate Count | Symmetry Factor |
|---|--------------|-------|---------|--------|----------------|-------|----------------|-----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.910 | 1891348 | 101.73 | 102.20 | % | 7197 | 1.1 |

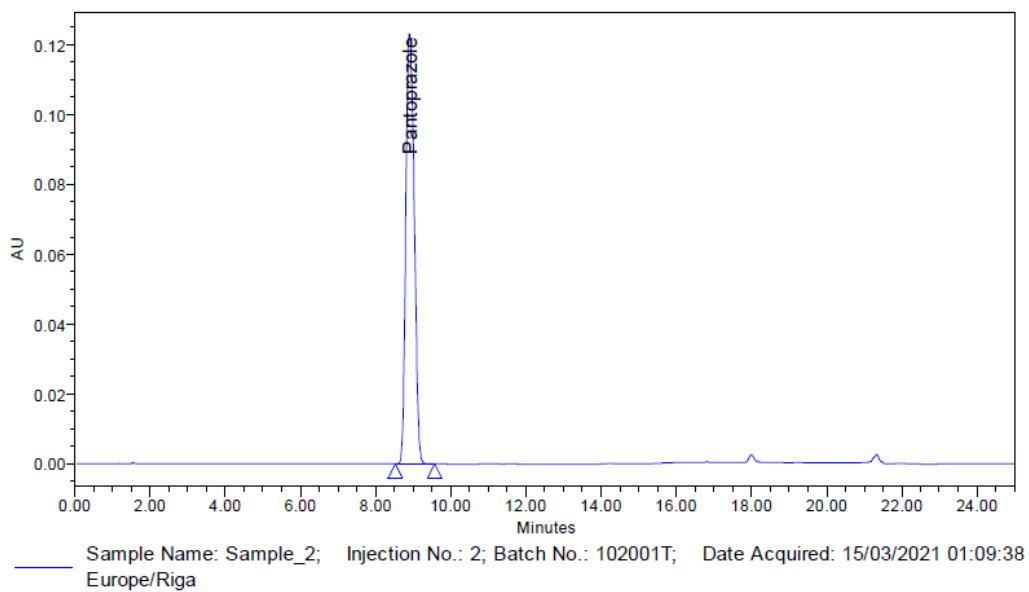
22.pielikums *Pantoprazola pilotsērijas pirmā parauga, trešā injekcija kvantitatīvā saturā noteikšanai*



Peak Results

| | Name | RT | Area | Result | Result Average | Units | EP Plate Count | Symmetry Factor |
|---|--------------|-------|---------|--------|----------------|-------|----------------|-----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.902 | 1909163 | 102.68 | 102.19 | % | 7033 | 1.2 |

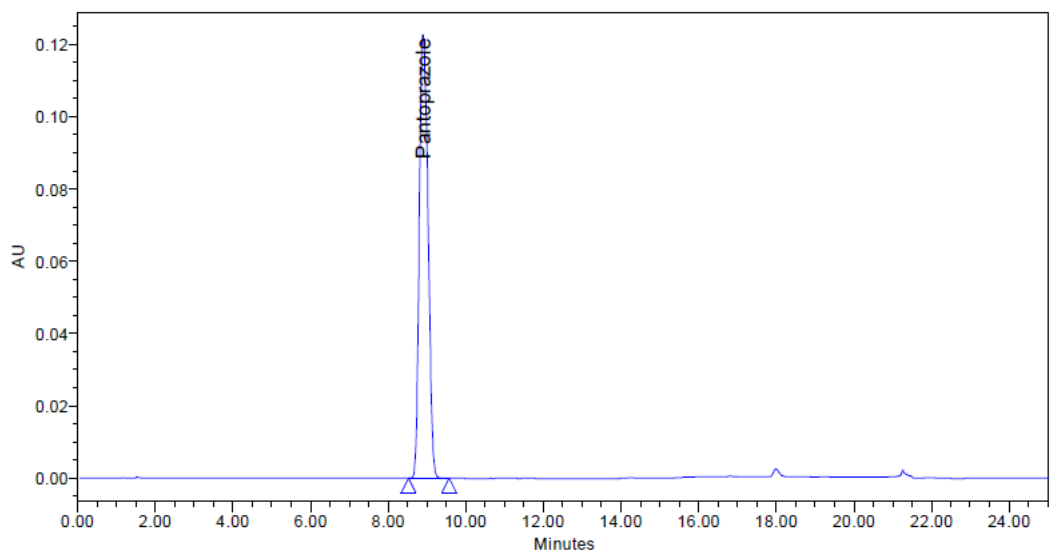
23.pielikums *Pantoprazola pilotsērijas otrā parauga, pirmā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai*



Peak Results

| | Name | RT | Area | Result | Result Average | Units | EP Plate Count | Symmetry Factor |
|---|--------------|-------|---------|--------|----------------|-------|----------------|-----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.902 | 1908777 | 102.66 | 102.20 | % | 6959 | 1.2 |

24.pielikums *Pantoprazola pilotsērijas otrā parauga, otrā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai*



Sample Name: Sample_2; Injection No.: 3; Batch No.: 102001T; Date Acquired: 15/03/2021 01:35:11
Europe/Riga

Peak Results

| | Name | RT | Area | Result | Result Average | Units | EP Plate Count | Symmetry Factor |
|---|--------------|-------|---------|--------|----------------|-------|----------------|-----------------|
| 1 | Pantoprazole | 8.898 | 1909434 | 102.70 | 102.20 | % | 6877 | 1.2 |

25.pielikums *Pantoprazola pilotsērijas otrā parauga, trešā injekcija kvantitatīvā satura noteikšanai*

Maģistra darbs „**Pantoprazola gatavās zāļu formas formulācija un analītisko metožu izstrāde**” izstrādāts AS “Grindeks” Hromatogrāfijas laboratorijā.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: _____ Alise Pluce
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītāja: Docente, Dr. chem. Agnese Osīte: _____
(personiskais paraksts) (datums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs, Mg. chem. Kaspars Kuprevičs: _____
(personiskais paraksts) (datums)

Recenzents: Profesors, Dr.Chem. Artūrs Vīksna: _____
(personiskais paraksts) (datums)

Darbs iesniegts Ķīmijas fakultātē: _____ (datums)

Dekāna pilnvarotā persona, metodiķe: _____ Ilze Gaile
(personiskais paraksts)

Darbs aizstāvēts maģistra gala pārbaudījuma komisijas sēdē:

_____ protokols Nr. _____ (ieraksta sekretārs)
(datums) (protokola Nr.)

Komisijas sekretāre, lektore: _____
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)