

LËNDËT E PËRAFËRTA NË TABLETAT ENALAPRIL QË QARKULLOJNË NË TREC

RILINDA KLOSI*

Summary

RELATED SUBSTANCES IN THE MARKET PRODUCTS OF ENALAPRIL TABLETS

Enalapril related substances produced as a consequence of enalapril degradation were investigated in commercial tablets containing enalapril maleate.

The analyzed samples were produced by different firms.

High performance liquid chromatography was the method used for the identification and the quantitative determination of substances related to enalapril maleate.

In some of enalapril tablets have been found high levels of related substances, mainly enalapril diketopiperazin. They overcome many times the limits given for these substances by USP 24.

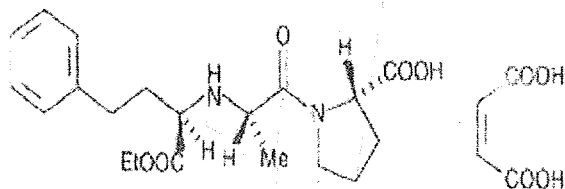
Key words: Enalapril maleate, tablets, related substances, HPLC.

Enalapriili njihet prej afro dy dekadash në sajë të veprimit të shprehur farmakologjik dhe përdorimit klinik. Ai ka ruajtur vendin e tij si bar i parapëlqyer midis ACE inhibitorëve të tjerë të gjeneratës së dytë.

Studime të shumta klinike kanë treguar se

ka qenë i suksesshëm jo vetëm në trajtimin e hipertensionit por gjithashtu të insuficiencës kardiake (1,2,3,4,5).

Vetë enalapriili paraqet fare pak veprim farmakologjik, përderisa hidrolizohet në mëlçi në metabolitin aktiv - enalaprilat.



Enalapril maleat

Enalapriili është një derivat i dy aminoacideve, L-alaninës dhe L-prolinës.

Në ndryshim nga kaptopriili, antihipertensivi i parë në këtë grup, ai nuk përmban grup sulfhidril në strukturë, nuk vepron në sistemin nervor dhe ka veprim të zgjatur.



Enalaprilat

Kripa maleate e enalaprililit përthithet mirë nga trakti gastro-intestinal dhe si e tillë qarkullon në formë tabletash.

Njihen dy forma polimorfe të enalapril maleatit, I dhe II. Forma II është lehtësisht më e qëndrueshme se forma I. Zinxhiri kryesor peptidik

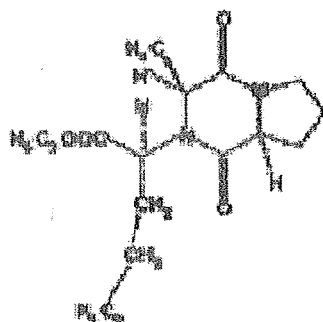
* Dërguar në Redaksi më 20 Qershor 2004, miratuar për botim më 20 Shkurt 2005.

Nga Qendra e Kontrollit të Barnave, Tiranë.

Adresa për letërkëmbim: Klosi R.: Qendra e Kontrollit të Barnave, Tiranë.

që konsiderohet përgjegjës për lidhjen me enzimën mbetet i njëjtë në të dy format (6).

Enalapril nuk ka veti të shprehura toksike. Përkundrazi lëndë të përafërta kimikisht me të mund të veprojnë mjaft negativisht në organizëm.



Enalapril-diketopiperazine

Dy rrugët kryesore të degradimit që çojnë

në formimin e lëndëve të përafërta janë hidroliza e esterit etilik, për pasojë formohet enalaprilati dhe ciklizimi i enalaprilit në enalapril-diketopiperazinë. Për këto papastërti nga firmat prodhuese si dhe nga USP-ja jepen limite të përmbajtjes së tyre në tabletat enalapril (2,7,8,9).

Qëllimi i punimit ka qenë njohja dhe vlerësimi sasior i lëndëve të përafërta në tabletat enalapril që qarkullojnë në treg. Për këtë qëllim është përdorur metoda e kromatografisë së lëngët me efikasitet të lartë - HPLC.

Materiali dhe Metoda

Tabletat enalapril që iu nënshtruan analizës kanë patur një afat kohor të gjatë para skadencës. Prodhome të firmave të ndryshme ato kanë qenë dy formëdoza, tab.x10mg dhe x20mg enalapril maleat. Te anënat për mostrat e analizuar paraqiten në tabelën nr.1.

Tabela nr.1: Të dhëna për mostrat e analizuar

Mostra	Forme - doza	Koha deri ne skadence	Ambalazhi
A	Tab. x 20mg	15 muaj	Al - Al
B	Tab. x 20mg	23 muaj	Al - Al
C	Tab. x 10mg	23 muaj	Al - Al
D	Tab. x 10mg	10 muaj	Pl - Al
E	Tab. x 20mg	24 muaj	Pl - Al
F	Tab. x 20mg	22 muaj	Al - Al
G	Tab. x 10mg	13 muaj	Al - Al
H	Tab. x 20mg	24 muaj	Al - Al
I	Tab. x 20mg	22 muaj	Al - Al
J	Tab. x 10mg	13 muaj	Pl - Al
K	Tab. x 20mg	24 muaj	Pl - Al
L	Tab. x 20mg	14 muaj	Al - Al
M	Tab. x 10mg	11 muaj	Al - Al
N	Tab. x 20mg	10 muaj	Al - Al
O	Tab. x 20mg	24 muaj	Al - Al
P	Tab. x 10mg	20 muaj	Al - Al
Q	Tab. x 20mg	10 muaj	Al - Al

Lëndët standard, enalapril maleat, enalaprilat, enalapril-diketopiperazinë janë siguruar nga firma Gedeon-Richter. Përqëndrimi i enalapril maleatit në tretësirën standard të injektuar ka qenë 200mg/ml ndërsa i enalaprilatit dhe EDKP-se 2mg/ml.

Ekstraktimi i lëndës vepruese nga tabletat është kryer në banjë me ultra tinguj për 15min. dhe me pas 15 min të tjera në tundës mekanik.

Kushtet e punës:

Aparati	Sistem HPLC, HP, series 1100
Kolona	Lichrosphere C18, 5mm, 200 x 4.6mm
Faza lëvizëse	Bufer fosfatik pH2: Metanol (1:1)

Detektori 215 nm
Temperatura 50°C

Vlerësimi sasior i përbërësve të ndryshëm është kryer nëpërmjet integritit të sipërfaqes nën pik dhe krahasimit me sipërfaqen e lëndës standard.

Validimi i metodës u bë në përputhje me kërkesat e USP 24.

Për të vrojtuar ndryshimet e mundshme të përmbajtjes së lëndës vepruese në tabletat enalapril pas një viti u rianalizuan ato mostra që ende ishin brënda afatit të skadencës.

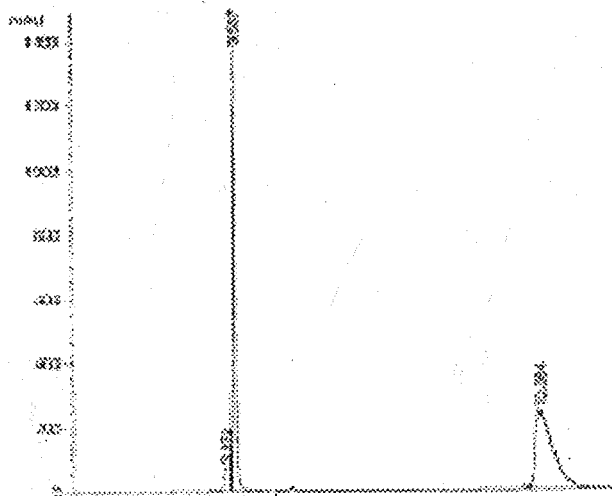
Një sasi enalapril maleati, paraprakisht e analizuar, u mbajt për një muaj në temperaturën 40°C dhe në lagështi 75% RH. Pas vjetërimit të

përsheptuar lënda në fjalë u rianalizua.

Për qëllime krahasimi, në ndonjë rast, është përdorur metoda spektrofotometrike e analizës (10,11)

Rezultatet dhe Diskutimi

Figura nr.1 HPLC kromatograma e standardit enalapril maleat.



Në figurën nr.1 jepet HPLC kromatograma e enalapril maleatit, lëndë standard.

Përbërësi i parë është acidi maleik me kohë retnsioni Rt 3.6 min. dhe i dyti enalapril me Rt 10.7 min.

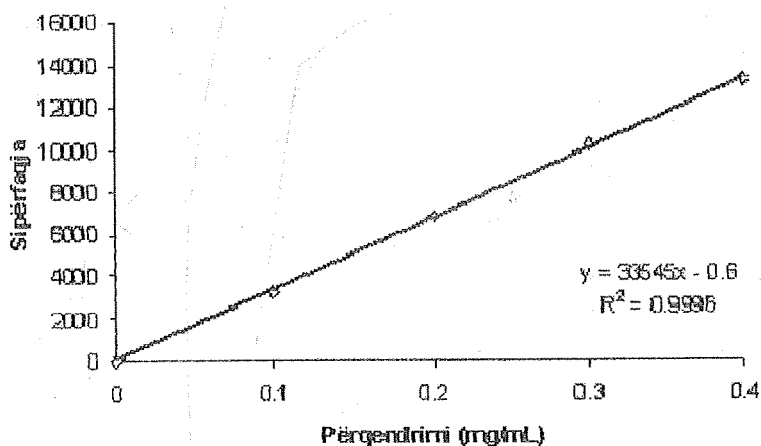
Rezultatet e validimit të metodës së analizës jepen më poshtë.

Lineariteti

U injektuan 4 tretësira me përqëndrime 0.1,

0.2, 0.3, 0.4 mg/ml enalapril maleat. Në figurën nr.2 paraqitet kurba lineare e përfutur duke vendosur në boshtin e ordinatave vlerat e sipërfaqeve nën pik.

Figura nr.2 Kurba e linearitetit.



Riprodhueshmeria

Me të njëjtën tretësirë, përqëndrim 0.2mg/ml, u injektua 6 herë rradhazi.

Vlera e shmangies standarde relative-RSD për enalapril maleatin rezultoi 0.4%.

Në mënyrë të ngjashme por me përqëndrime të tjera u veprua për enalaprilatin dhe EDKP. Vlerat e shmangies standarde relative për të rezultuan të jenë respektivisht 0.8%; 0.7

Resolucioni

$$R_s = \frac{1.18(t_2 - t_1)}{w_1 + w_2}$$

Kërkësa e USP për të tre faktorët e resolucionit që jepen më poshtë është $R_s > 2$.

Nga vendosja e vlerave të mara eksperimentalisht në formulën përkatëse faktorët e resolucionit rezultuan si vijon.

Rs (ac. maleik, enalaprilat) = 6
 Rs (enalaprilat, enalapril) = 7.4
 Rs (enalapril, EDKP) = 10

N, enalapril 3450 N > 3000
 N, enalaprilat 1500 N > 1000
 N, EDKP 9000 N > 2500

Numri i pjatave teorike

$$N = 5.54 \left(\frac{t}{W_{1/2}} \right)^{\frac{2}{1/4}}$$

Nga zëvendësimet në formulë u fituan vlerat e më poshtme.

Vlerat e N

Kërkesa sipas USP24

Në tabelën nr. 2 jepen rezultatet e analizave për mostrat në studim.

Përmbajtja e enalaprilit në tableta shprehet në përqindje duke konsideruar 100% sasinë e lëndës vepruese të deklaruar mbi ambalazh.

Përsa u takon lëndëve të përafërta përmbajtja e tyre shprehet gjithashtu në përqindje, por i referohet enalapril maleatit.

Tabela nr. 2 Përmbajtja e lëndës vepruese dhe e lëndëve të përafërta në mostrat e analizuar.

Mostra	Përmbajtja %	Lëndë të përafërt.%	Mostra	Përmbajtja %	Lëndë të përafërt.%
A	100.0	0.2	I	98.2	1.2
B	98.2	0.5	J	93.5	5.7
C	99.8	0.4	K	92.8	4.1
D	57.2	33.5	L	98.0	2.0
E	80.2	17.2	M	100.5	0.8
F	99.2	0.8	N	99.8	0.6
G	100.5	0.3	O	98.5	0.7
H	99.8	0.2	P	100.1	0.3

Sikurse shihet përmbajtja e lëndëve të përafërta 33.5% në mostrën D dhe 17.2% në mostrën E është mjaft e lartë. Në shumicën e dosjeve të dërguara nga firmat për regjistrim kërkohet që përmbajtja e tyre në tabletat e sapo prodhuara të mos kalojnë 1.5%. Në disa dosje jepen limite edhe për përbërës të veçantë. Kështu p.sh. për "Berliprilin" kërkohet të mos ketë më shumë se 0.5% enalaprilat dhe jo më shumë se 0.2% enalapril diketopiperazinë duke ju referuar lëndës vepruese.

Limiti i lejimit për to është më i lartë në monografinë përkatëse të USP 24, jo më shumë se 5%. Mbi këtë limit rezulton gjithashtu përmbajtja e lëndëve vepruese në mostrën J.

Në të tre rastet e sipërmendura përbërësi kryesor ka qënë enalapril-diketopiperazina. Po të

kihen parasysh rezultatet e analizës së vjetërimit të përshpejtuar të lëndës së parë enalapril maleat që, në kushtet e përmendura më sipër, pas një muaji përmbante 35% enalaprilat dhe vetëm 0.1% EDKP, duket se prania e kësaj të fundit në tableta është e lidhur kryesisht me procesin teknologjik të prodhimit, sintezën e lëndës së parë, dhe me llojin e ambalazhit primar.

Është i njohur fakti që egziston mundësia e formimit të EDKP-së gjatë tharjes së granulatit.

Gjithashtu ndryshimi lidhur me përqueshmërinë e ujit midis ambalazhit plastik dhe fletëve të aluminit është i madh, lagështia favorizon hidrolizën për pasojë formimin e enalaprilatit (7, 12, 13).

Në tabelën nr. 3 jepen rezultatet e rikontrollit për mostrat e analizuar pas një viti.

Tabela nr. 3 Përmbajtja e enalapril maleatit dhe e lëndëve të përafërta pas një viti.

Mostra	Përmbajtja %	Lëndë të përafërt.%	Mostra	Përmbajtja %	Lëndë të përafërt.%
A	98.0	1.0	H	98.0	1.2
B	94.2	2.5	I	93.5	2.2
C	95.0	2.1	J	91.5	6.8
F	92.3	3.0	K	92.1	5.1
G	99.0	0.9	L	97.2	2.5
			O	96.0	1.2

Në të gjitha rastet përmbajtja e lëndës vepruese ka rënë lehtësisht. Për lëndët e përafërta mund të thuhet gjithashtu se ndryshimi për sejcilen mostër në krahasim me përmbajtjen para një viti luhetet nga 1 në 2% por kjo vlerë është në rritje.

Mostra E, që rezultoi me përmbajtje të lartë lëndësh të përafërta duke përdorur HPLC-në, figura nr.3, u analizua me anë të metodës

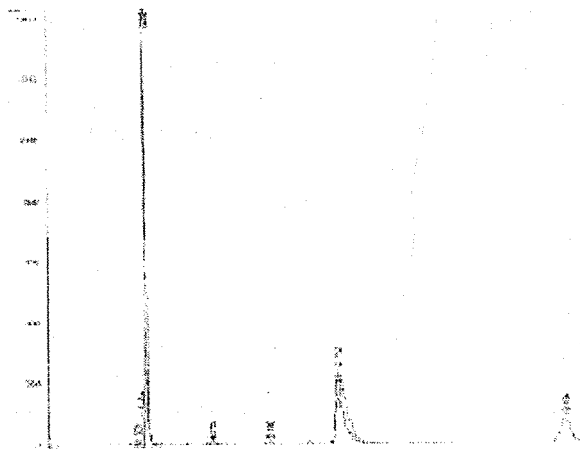


Figura nr. 3 HPLC- kromatograma e mostrës E dhe ajo e lëndës standard. Rt 3.5- ac. maleik, Rt 6.0- enalaprilat, Rt 10.7- enalapril, Rt 19.1- EDKP.

Në përfundim mund të themi se del e qartë domosdoshmëria e kontrollit laboratorik për lëndët e përafërta në tabletat enalapril që qarkullojnë në treg.

Vetëm metodikat analitike që bazohen në kromatografinë e lëngët me efikasitet të lartë -HPLC -japin informacion për identifikimin dhe vlerësimin sasior të tyre në preparat.

spektrofotometrike. Në figurën nr. 4 paraqiten dy karakteristikat spektroskopike të fituara nga lënda standard dhe nga mostra. Vlerat e absorbancës 0.663 dhe 0.641, në gjatësinë e valës 210nm, janë mjaft të afërta. Gjithashtu nuk fitohet asnjë informacion për papastërtitë.

Si rrjedhojë kjo metodë analize nuk mund të përdoret në kontrollin e tabletave enalapril.

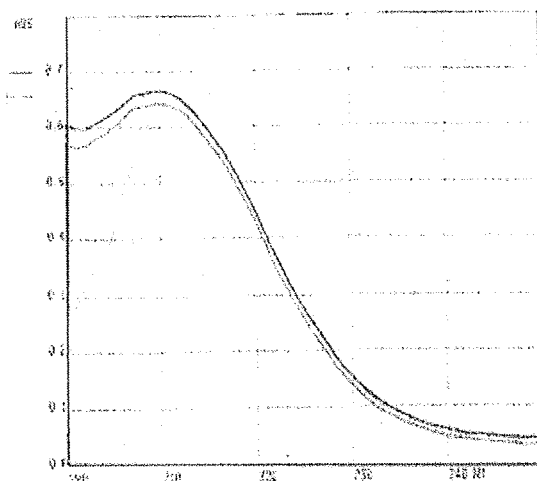


Figura nr. 4 Karakteristikat spektroskopike. 1- standardi, 2-mostra E.

Cilësia e lëndës së parë që futet në prodhim si dhe lëndët e tjera plotësuese të tabletës, lloji i ambalazhit primar dhe procesi teknologjik i prodhimit, luajnë rolin kryesor në formimin e lëndëve të përafërta të enalapril maleatit.

Rikontrolli i mostrave të tabletave enalapril në prag të skadencës është gjithashtu i rëndësishëm për shkak të rritjes të përmbajtjes së tyre me kalimin e kohës.

BIBLIOGRAFIA

1. Physicians Desk Reference. 46 edition, 1992, 1564.
2. Drug Information 93. Bethesda, USA, 1993, 937.
3. The Extra Pharmacopoeia Martindale. London, 2001, 863.
4. **Kjekshus I.:** Effects of enalapril on long-term mortality in severe congestive heart failure. American Journal Cardiology, 1992, 69, 103-7.
5. **Maia LN. et al.:** Prospective evaluation comparing the effects of enalapril and losartan in left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. American Heart Journal, Jun 2003, 145-8.
6. **Kiang YH et al.:** Structure determination of enalapril maleate form II from high-resolution x-ray diffraction data. Journal Pharmaceutical Sciences, September 2003, 92, 1844-53.
7. **Pillati C, Ercolano I.:** Search for related substances in products containing enalapril maleate as the active principle. Drug. Dev. Ind. Pharmaceutica, Jun 1999, 807-811.
8. USP 24 NF19.
9. Pharmacopoea Europea third edition. 2001, 872.
10. **Walily AF et al.:** Simultaneous determination of enalapril maleate and hydrochlor-tiaside by first-derivative UV spectrophotometry and HPLC. Journal Pharm. Biomed. Analysis, Jun 1995, 13, 851-6.
11. **Stanisz B.:** The application of Vis-spectrophotometric determination of enalapril maleate in substance, in tablets and estimation of ester group stability. Acta Polonica Pharmaceutica, Nov. 1999, 431-4.
12. **Al- Omari MM. et al.:** Effect of the drug matrix on the stability of enalapril maleate in tablet formulations. Journal. Farm. Biomed. Analysis, Jul 2001, 25, 893-902.
13. **Yamato S. et al.:** Evidence of degradation of maleate moiety in chlorpheniramine maleate solution using HPLC method. Chemical Pharmaceutical Bulletin, Tokyo, Aug. 2000, 48, 1205-7.