

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS  
FARMACIJOS FAKULTETAS  
KLINIKINĖS FARMACIJOS KATEDRA

ORINTA JONKAUSKAITĖ

**GLIUKOZĖS INJEKCIŲ TIRPALŲ GAMYBOS TECHNOLOGIJOS IR  
KOKYBĖS VERTINIMAS BEI STABILUMO TYRIMAI**

**Magistro baigiamasis darbas**

**Darbo vadovas**  
Prof. dr. Vitalis Briedis

KAUNAS, 2016

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS  
FARMACIJOS FAKULTETAS  
KLINIKINĖS FARMACIJOS KATEDRA

**TVIRTINU:**

Farmacijos fakulteto dekanas Vitalis Briedis

Data

**GLIUKOZĖS INJEKCINIŲ TIRPALŲ GAMYBOS TECHNOLOGIJOS IR  
KOKYBĖS VERTINIMAS BEI STABILUMO TYRIMAI**

Magistro baigiamasis darbas

Darbo vadovas:

Vitalis Briedis

Data

Recenzentas:

Darbą atliko:

Magistrantė

Orinta Jonkauskaitė

Data

Data

**TURINYS**

|   |    |
|---|----|
| SANTRAUKA .....   | 5  |
| SUMMARY .....   | 7  |
| SANTRUMPOS .....  | 10 |
| ĮVADAS .....  | 11 |
| DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....  | 12 |
| 1. LITERATŪROS APŽVALGA .....   | 13 |
| 1.1. Gliukozės savybės, šaltiniai ir panaudojimas .....                     | 13 |
| 1.1.1. Gliukozės fizikocheminės savybės, analizės metodai.....              | 13 |
| 1.1.2. Gliukozės panaudojimas farmacinių preparatų kūrime.....              | 14 |
| 1.2. Gliukozės farmaciniai preparatai.....                                  | 14 |
| 1.3. Gliukozės tirpalai injekcijoms .....                                   | 15 |
| 1.3.1. Gliukozės tirpalų injekcijoms farmakologinės savybės.....            | 15 |
| 1.3.2. Gliukozės infuzinių tirpalų terapinės indikacijos.....               | 15 |
| 1.3.3. Nepageidaujamas poveikis.....  | 16 |
| 1.3.4. Parenteralinių preparatų gamybos technologija.....                   | 17 |
| 1.3.5. Gliukozės tirpalų stabilumas .....                                   | 18 |
| 1.4. Apibendrinimas .....   | 20 |
| 2. TYRIMO METODIKA.....   | 22 |
| 2.1. Tyrime naudotos medžiagos ir įranga .....                              | 22 |
| 2.1.1. Naudotos medžiagos .....   | 22 |
| 2.1.2. Naudota įranga .....   | 22 |
| 2.2. Gliukozės tirpalų gamyba vaistinėje .....                              | 22 |
| 2.3. Stabilumo tyrimas.....   | 27 |
| 2.4. Analizės metodai .....   | 27 |
| 2.4.1. Gliukozės tirpalų kiekybinis įvertinimas poliarimetrijos metodu..... | 27 |

|  |    |
|--|----|
| 2.4.2. Priemaišų nustatymas UV spektrofotometrijos metodu.....   | 28 |
| 2.4.3. pH nustatymas .....                                       | 28 |
| 2.5. Statistinė analizė.....                                     | 28 |
| 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....                              | 29 |
| 3.1. Gliukozės infuzinių tirpalų stabilumo tyrimai.....          | 29 |
| 3.1.1. Ilgalaikis stabilumo tyrimas .....                        | 29 |
| 3.1.2. Pagreitintas stabilumo tyrimas .....                      | 31 |
| 3.2. Gliukozės skilimo produktų nustatymas .....                 | 34 |
| 3.3. Gliukozės tirpalų injekcijoms specifikacijos sudarymas..... | 35 |
| 3.4. Rezultatų apibendrinimas .....                              | 36 |
| 4. IŠVADOS.....  | 38 |
| 5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS.....                                 | 39 |
| 6. LITERATŪROS SĄRAŠAS.....                                      | 40 |
| 7. PRIEDAI.....  | 43 |

## SANTRAUKA

### GLIUKOZĖS INJEKCIINIŲ TIRPALŲ GAMYBOS TECHNOLOGIJOS IR KOKYBĖS VERTINIMAS BEI STABILUMO TYRIMAI

Orintos Jonkauskaitės baigiamasis magistro darbas/ mokslinis vadovas prof. dr. Vitalis Briedis

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto, Farmacijos fakulteto, Klinikinės farmacijos katedra.  
Kaunas, 2016.

**Tikslas:** Įvertinti gliukozės tirpalų injekcijoms technologiją, kokybę ir stabilumą, siekiant nustatyti pagamintų preparatų tinkamumo vartoti laiką.

**Tyrimo uždaviniai:** 1. Atlikti paskelbtų mokslinių straipsnių apie gliukozės fizikines-chemines savybes bei farmakologines savybes analizę. 2. Paruošti gliukozės tirpalo injekcijoms stabilumo tyrimo protokolą bei produkto specifikaciją. 3. Įvertinti preparatų stabilumą laikantis ICH reikalavimų. 4. Išanalizuoti stabilumo tyrimų duomenis ir teikti išvadą apie preparato stabilumą.

**Tyrimo metodai:** Tyrime buvo tirti LSMU ligoninės Kauno klinikų vaistinėje pagaminti gliukozės 10 proc. ir 40 proc. tirpalai injekcijoms. Atliktas ilgalaikis stabilumo tyrimas ir pagreitintas stabilumo tyrimas, kurio metu gliukozės tirpalų kiekybinė analizė atlikta poliarimetrijos metodu, skilimo produktai nustatyti UV spektrofotometrijos metodu.

**Rezultatai:** Gliukozės tirpalai injekcijoms LSMU ligoninės KK vaistinėje gaminami laikantis Geros vaistinių praktikos reikalavimų, gliukozės tirpalų gamybos etapai atitinka klasikinius sterilių parenteralių preparatų gamybos etapus.

Gliukozės 10 proc. ir 40 proc. tirpalų injekcijoms kiekybinis įvertinimas atliktas poliarimetrijos metodu. Tik pagamintų abiejų koncentracijų, kiekvienos serijos tirpalų koncentracija neviršijo nustatytos  $\pm 5$  % ribos, tai leidžia daryti išvadą, kad paruošiamieji gamybos darbai ir pats gamybos procesas vaistinėje atliekamas tinkamai.

Atlikus stabilumo tyrimus nustatyta, kad gliukozės tirpalai tiek ilgalaikio stabilumo tyrimo sąlygomis, tiek pagreitinto stabilumo tyrimo sąlygomis nepakeičia išvaizdos – lieka skaidrūs ir bespalviai, o pH reikšmės neviršija nustatytų ribų (nuo 3,0 iki 4,1). Tyrimo metu nustatytų hidrosimetilfurfurolo kiekiai taip pat neviršija nustatytos ribos (absorbcija ne didesnė nei 0,25).

Ilgalaikio stabilumo tyrimo rezultatai parodė, kad gliukozės kiekio pokyčiai po tinkamumo vartoti laiko pasibaigimo (po 3 mėn.) ir po 4 mėnesių neviršija  $\pm 5$  proc. ribos. Atlikus pagreitinto

stabilumo tyrimą, taip pat nustatyta, kad, po tinkamumo vartoti laiko pasibaigimo (po 3 mėn.) ir po 4 mėnesių, gliukozės kiekio pokyčiai neviršija  $\pm 5$  proc. ribos.

**Išvados:**

1. Įvertinus gliukozės fizikines-chemines savybes, gliukozės bei hidroksimetilfurfurolo kiekiui įvertinti, reikalingi jautrūs analizės metodai. Gliukozės tirpalai medicininiais tikslais naudojami dideliais kiekiais, todėl būtina griežta produkto kokybės kontrolė.

2. Sudaryta specifikacija kontroliuoti produkto kokybę. Į specifikaciją įtraukti bendrieji (išvaizda, pH) ir specifiniai (gliukozės bei hidroksimetilfurfurolo kiekiai) kokybės rodikliai yra pakankami užtikrinti produkto kokybę.

3. Gliukozės tirpalai injekcijoms išlieka stabilūs. Tirpalų kokybę apibūdinantys parametrai tyrimo metu kito priimtinosiose ribose. Įvertinus turimus tyrimų rezultatus, 10 proc. gliukozės tirpalų injekcijoms tinkamumo vartoti laikas gali būti 4 mėnesiai, 40 proc. – 3 mėnesiai, laikant ne aukštesnėje nei 25°C temperatūroje.

4. Per 4 pagreitinto stabilumo tyrimo mėn. nenustatytas didesnis rodiklių nuokrypis nei leidžiama, o bendros tendencijos nenurodo, kad kiltų grėsmė, kad po 6 mėn. nustatyti kokybės rodikliai viršys leidžiamas ribas, todėl tikėtina, kad produktai išliks stabilūs 6 mėn.

## SUMMARY

### GLUCOSE SOLUTIONS FOR INJECTIONS MANUFACTURING TECHNOLOGY AND QUALITY ASSESSMENT AND STABILITY TESTS

Orinta Jonkauskaitė master thesis/ Term paper advisor prof. Dr. V. Briedis

Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of pharmacy, Department of Clinical Pharmacy. Kaunas, 2016.

**Objective:** To perform a quality evaluation of glucose solutions for injections and recommend the date of minimum durability for these products.

**Main tasks:** 1. To review previous studies on physical, chemical characteristics of glucose and also pharmacological characteristics. 2. Prepare stability study protocol of glucose solution and prepare product specification. 3. To evaluate stability of the products in accordance with the ICH requirements. 4. To analyze the stability studies, and provide a conclusions about the product stability.

**Research methods:** In this study was tested glucose 10 per cent and 40 per cent solutions for injections produced at pharmacy of LUHS hospital Kaunas clinics. Long-term and accelerated stability tests were carried out. The amount of glucose was determined using polarimetric method, glucose degradation products was determined using UV spectrophotometry method.

**Results:** Glucose solutions for injections in LUHS hospital KK pharmacy manufactured in accordance with good pharmacy practice standards, glucose solutions stages of production associated with classic sterile preparations production stages.

Glucose 10 % and 40 % solutions for injections quantitative evaluation performed polarimetric method. Only produced in two levels, each series of solutions the concentration did not exceed the limits of  $\pm 5$  %, this leads to the conclusion that the preparation of production operation and of the production process of in a pharmacy carried out properly.

The stability studies showed that glucose solutions as the long-term stability study conditions and accelerated stability study conditions does not change in appearance – remains transparent and colorless, and the pH value is below the limits (from 3.0 to 4.1). The study found HMF content also does not exceed the threshold (absorption of not more than 0.25).

Long-term stability test results showed that changes of glucose amount after expiration of shelf-life (after 3 months) and after 4 months does not exceed  $\pm 5$  % limit. The accelerated stability

study also showed that, after expiry of shelf-life (after 3 months) and after 4 months, glucose amount changes does not exceed  $\pm 5$  limit.

**Conclusions:**

1. Was evaluated glucose physical and chemical properties, to estimate amount of glucose and HMF needed sensitive analysis methods. Glucose solutions for medical purposes used in large quantities, it is necessary to strict quality control.

2. The specification of the control product quality was formed. The specification covers general (appearance, pH) and specific (glucose and hydroxymethylfurfural content) quality indicators are sufficient to ensure product quality.

3. Glucose solutions for injections are stable. The evaluation results of the research, 10 per cent glucose solutions for injections into shelf life may be 4 months and 40 percent glucose solutions for injections – 3 months when stored at temperatures below 25°C temperature.

4. During the 4-month accelerated stability study has not been established higher results than the indicator deviation is allowed, while the general trend does not indicate that there is a threat that after 6 months determine quality indicators exceed allowed limits, it is likely that the products will remain stable for 6 months.



## **PADEKA**

Už suteiktas kokybiškas darbo sąlygas ir pagalbą atliekant mokslinį tiriamąjį darbą „Gliukozės injekcinių tirpalų gamybos technologijos ir kokybės vertinimas bei stabilumo tyrimai“ dėkoju darbo vadovui prof. dr. Vitaliui Briedžiui ir Klinikinės farmacijos katedros kolektyvui.

Taip pat dėkoju Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Kauno klinikų vaistinės vedėjai Birutei Varanavičienei už suteiktas žinias ir tiriamuosius tirpalus.

## SANTRUMPOS

ATC – anatinė terapinė cheminė klasifikacija

ESC – efektyvioji skysčių chromatografija

GSP – gliukozės skilimo produktai

HMF – hidroksimetilfurforolas

SD – standartinis nuokrypis

Ph. Eur. – Europos farmakopėja

proc. – procentai

USP – Jungtinių Amerikos Valstijų farmakopėja

UV – ultravioletinė spinduliuotė

## IVADAS

Pirmą kartą gliukozė buvo išskirta iš razinų 1747 metais vokiečių chemiko Andreas Sigismund Marggraf (1709-1782). Po beveik šimtmečio, 1838 metais, prancūzų chemikas Jean Baptiste Andre Dumas (1800-1884) tuo metu dar bevardei molekulei suteikė pavadinimą „gliukozė“ nuo graikų kalbos žodžio „glycos“, reiškiančio „saldus“, tačiau gliukozės struktūra liko neišaiškinta. Galiausiai 19 a. antrojoje pusėje vokiečių chemikas Emil Fisher (1852–1919) nustatė gliukozės molekulinę struktūrą, taip pat nustatė, kad gliukozė yra dviejų formų (D ir L) ir gali būti ciklinės arba atviros formos. Už šiuos atradimus 1902 m. chemikui buvo skirta Nobelio chemijos premija. [1]

Gliukozė yra būtina mūsų organizmui ir kiekvienos ląstelės egzistavimui. Tai pagrindinis energijos šaltinis, vien žmogaus smegenys kasdien sunaudoja apie 120 g gliukozės. Gliukozės atsargos kaupiamos kepenyse glikogeno pavidalu. Dėl šios priežasties į įvairių vaistinių preparatų sudėtį gliukozė įeina ne tik kaip pagalbinė, bet kaip ir veiklioji medžiaga. Gliukozės tirpalai injekcijoms dažniausiai naudojami hipoglikeminei būklei, dehidratacijai gydyti, parenteriniam maitinimui bei kaip kartu suderinamų vaistų tirpiklis ar tirpalų skiediklis.

LSMU Kauno klinikų vaistinė klinikų reikmėms gamina dažnai naudojamus įvairių koncentracijų gliukozės tirpalus injekcijoms. Šio tyrimo tikslas įvertinti vaistinėje gaminamų gliukozės preparatų gamybos technologiją bei pagamintų tirpalų kokybę ir stabilumą.

## DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

**Tikslas:** Įvertinti gliukozės tirpalų injekcijoms technologiją, kokybę ir stabilumą, siekiant nustatyti pagamintų preparatų tinkamumo vartoti laiką.

**Uždaviniai:**

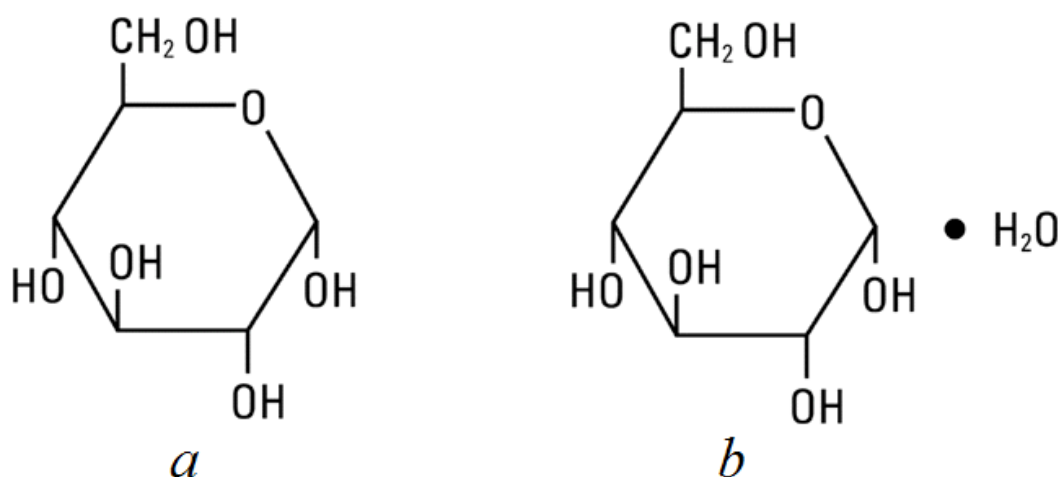
1. Atlikti paskelbtų mokslinių straipsnių apie gliukozės fizikines-chemines savybes bei farmakologines savybes analizę.
2. Paruošti gliukozės tirpalo injekcijoms stabilumo tyrimo protokolą bei produkto specifikaciją.
3. Įvertinti preparatų stabilumą laikantis ICH reikalavimų.
4. Išanalizuoti stabilumo tyrimų duomenis ir teikti išvadą apie preparato stabilumą.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Gliukozės savybės, šaltiniai ir panaudojimas

### 1.1.1. Gliukozės fizikocheminės savybės, analizės metodai

Gliukozė ((+)-D-gliukopiranozė) – monosacharidas, priskiriamas heksozėms, dar žinomi kiti pavadinimai – dekstrozė, D-gliukozė, vynuogių ar kraujo cukrus[1, 2]. Tai bespalviai kristalai arba balti ar beveik balti, saldaus skonio, bekvapiai kristaliniai milteliai. Molekulinė formulė  $C_6H_{12}O_6$  (bevandenės gliukozės) arba  $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$  (gliukozės monohidrato). Molekulinė masė bevandenės gliukozės 180,2 g/mol, gliukozės monohidrato – 198,2 g/mol. Lydymosi temperatūra 146°C. Tankis 1,52 g/cm<sup>3</sup>. Gliukozė gerai tirpsta vandenyje, ribotai etanolyje, tirpumas verdančiame vandenyje ar etanolyje padidėja. Gliukozės kokybė įvertinama atsižvelgiant į pagaminto gliukozės tirpalo išvaizdą, kvapą, spalvą, gliukozės specifinį optinį sukimą (specifinis optinis sukimas yra nuo +52,5 iki +53,3), įvertinami pašalinių cukrų, tirpių krakmolo, dekstrinų bei vandens kiekiai, atliekamos reakcijos sulfitam, chloridams, sulfatams, kalcio, sunkiųjų metalų (arseno, švino, bario) nustatyti. Laikoma vėsioje, sausoje vietoje, gerai uždarytose talpyklose atskirai nuo stiprių oksidatorių. [2, 3, 4, 5, 6]



1 pav. Bevandenės gliukozės (a) ir gliukozės monohidrato (b) struktūrinės formulės [7]

Gliukozės tapatybę galima nustatyti išlydant ir toliau kaitinant, kol užverda ir sudega, turi atsirasti kvapas būdingas degintam cukrui (karamelei). Taip pat tapatybę galima nustatyti atliekant

reakciją: keli lašai gliukozės tirpalo (santykiu 1:20) įlašinami į 5 ml karšto šarminio vario tartrato, išskrenta gausios raudonos spalvos vario oksido nuosėdos. [5, 6]

Fotosintezės metu augaluose susintezuojama gliukozė, kuri krakmolo pavidalu kaupiama įvairiose augalų audiniuose. Gliukozė pramoniniu būdu gaunama, atliekant krakmolo (paprastai kukurūzų krakmolo) rūgštinę ar fermentinę hidrolizę. Esant žemesnei nei 50°C temperatūrai, pagaminama stabili kristalinė  $\alpha$ -D-gliukozės monohidrato forma, o esant aukštesnei temperatūrai, gaunama bevandenė gliukozė. [8]

Atsižvelgiant į gliukozės fizikochemines savybes, kiekybinei analizei taikomi įvairūs analizės metodai. Dėl optinio aktyvumo ir gebėjimo sukurti šviesos poliarizacijos plokštumą, vienas iš galimų analizės metodų yra poliarimetrija.[9] Taip pat taikoma refraktometrija [10] bei chromatografiniai metodai, tokie kaip skysčių chromatografija [2] bei efektyvioji skysčių chromatografija [11].

### **1.1.2. Gliukozės panaudojimas farmacinių preparatų kūrime**

Kuriant ir gaminant farmacinius preparatus, gliukozė naudojama kaip pagalbinė medžiaga arba kaip veiklioji medžiaga. Kai gliukozė naudojama kaip pagalbinė medžiaga, dažniausiai ji atlieka saldiklio, tablečių ar kapsulių užpildo funkcijas, tirpaluose naudojama kaip tirpalų toniškumą reguliuojanti medžiaga. Taip pat gliukozė, kaip rišiklis, naudojama tiesioginio tabletavimo metu kramtomų tablečių gamyboje, o gliukozės tirpalas naudojamas kaip tirpiklis ir rišiklis drėgnos granuliacijos metu. [8, 12] Nors gliukozė savo savybėmis yra panaši į laktozę, tačiau tablečių gamyboje kaip skiediklis ir užpildas naudojama rečiau nei laktozė, kadangi gaminant tabletes su gliukozės monohidratu, reikia daugiau slidinamosiomis ir tepamosiomis savybėmis pasižyminčių medžiagų, pagamintos tabletės yra mažiau irios ir turi polinkį sukietėti. Kartais gliukozė naudojama tablečių gamyboje, kaip pagalbinė medžiaga, kai veiklioji medžiaga yra jautri šviesai, siekiant pagerinti veikliosios medžiagos stabilumą. [8]

Gliukozė taip pat naudojama terapiškai kaip veiklioji medžiaga kaip angliavandenių šaltinis taikant parenterinę mitybą.

## **1.2. Gliukozės farmaciniai preparatai**

Gliukozės preparatų gaminama įvairių farmacinių formų. Gaminami įvairių koncentracijų

infuziniai tirpalai, infuzinės emulsijos, hemofiltracijos ir peritoninės dializės tirpalai, geriamieji milteliai, tabletės, peroraliniai geliai.

### **1.3. Gliukozės tirpalai injekcijoms**

#### **1.3.1. Gliukozės tirpalų injekcijoms farmakologinės savybės**

Farmakoterapinė grupės – plazmos pakaitalai ir infuziniai tirpalai, kiti intraveninių tirpalų priedai, ATC kodas – B05XX, taip pat – kitos maistinės medžiagos, angliavandeniai, ATC kodas - V06DC01 [13].

##### ***1.3.1.1. Farmakokinetinės savybės***

Gliukozė per piruvato ar pieno rūgštis metabolizuojama iki anglies dioksido ir vandens išsiskiriant energijai, todėl, vartojant gliukozės tirpalą, organizmas aprūpinamas ekvivalentišku kiekiu vandens. Normali gliukozės koncentracija kraujo plazmoje yra 3,3-5,5 mmol/l. Labai padidėjęs gliukozės kiekis plazmoje (> 10 mmol/l) sukelia jos išsiskyrimą su šlapimu (gliukozuriją) [14].

##### ***1.3.1.2. Farmakodinaminės savybės***

Vartojant gliukozę, padidėja gliukozės koncentracija kraujyje ir ląstelės aprūpinamos reikiamu energijos kiekiu, būtinu normaliam jų funkcionavimui. 1 g gliukozės atitinka 17,1 kJ (4kcal). Gliukozė mažina baltymų skaidymą ir azoto neigiamą pusiausvyrą, skatina glikogeno susidarymą, apsaugo nuo ketozės arba ją sumažina. Gliukozės infuzija skatina diurezę, kuri priklauso nuo suvartoto tirpalo kiekio ir ligo būklės [14].

#### **1.3.2. Gliukozės infuzinių tirpalų terapinės indikacijos**

Gliukozė yra pagrindinis centrinės nervų sistemos (CNS) energijos šaltinis [15, 16]. Gliukozės tirpalai parenteraliai vartojami sunkiai hipoglikemijai gydyti, neaiškios priežasties komai arba diabetu sergančiam ir komos ištiktam pacientui gydyti (50 %, vėliau mažesnių koncentracijų)

[15].

Tirpalo skiriama, kai reikia kaloringo parenteralinio maitinimo, jei atsirado dehidracija, skysčių netektis pro inkstus, infekcija, kepenų ar širdies liga, plaučių pabrinkimas, hemoraginė diatezė. Gliukozės injekciniu tirpalu galima skiesti vaistus arba gaminti jų tirpalus. Gliukozės tirpalo galima dėti į kraujo pakaitalų tirpalus, šokui gydyti skirtus tirpalus. Izotoninio (5 %) gliukozės tirpalo galima lašinti į veną kaip plazmos pakaitalo [17, 18].

### 1.3.3. Nepageidaujamas poveikis

Vartojant gliukozės injekcinius tirpalus, galimi nepageidaujami poveikiai susiję su vartojimo būdu: galimi pažeidimai vartojimo vietoje bei bendriniai sutrikimai, tokie kaip karščiavimas, skausmas ir uždegimas injekcijos vietoje, venų trombozė ar flebitas bei ekstravazacija (kraujo išsiliejimas į aplinkinius audinius).

Vartojant gliukozės tirpalus kaip nurodyta, nepageidaujamas poveikis susijęs su veikliąja medžiaga yra mažai tikėtinas, tačiau gali pasireikšti nepageidaujami poveikiai susiję su perdozavimu. Gliukozės perdozavimas gali pasireikšti šiais simptomais:

- hiperglikemija,
- gliukozurija (gliukozės išsiskyrimas su šlapimu),
- kraujo plazmos osmoliariškumo padidėjimu iki hiperglikeminės-hiperosmosinės komos,
- dehidracija,
- elektrolitų pusiausvyros sutrikimu,
- rūgščių-bazių pusiausvyros sutrikimu,
- hiperhidracija,
- intoksikacijos vandeniū būdingais simptomais, tokiais kaip pykinimas, vėmimas, spazmai,
- lipogeneze (sunkiais atvejais) ir t.t. [14]



### 1.3.4. Parenteralinių preparatų gamybos technologija

Sterilių parenteralinių preparatų gamyba sudaro kelis etapus. Siekiant garantuoti preparato kokybę, būtina patikimai kontroliuoti kiekvieną technologinio proceso etapą. Parenteralinių preparatų gamyba vykdoma atitinkamo švarumo patalpose, tai garantuoti padeda tinkama šildymo, ventiliacijos ir oro kondicionavimo sistema. [19]

Injekcinių tirpalų gamybos etapai:

I. Paruošiamieji darbai (patalpų, pagalbinių medžiagų, įrengimų, taros bei kamščių paruošimas, personalo pasirengimas darbui; vaistinių medžiagų paruošimas);

II. Tirpalo gamyba (tirpinimas ir analizė);

III. Tirpalo filtravimas ir fasavimas (filtravimas, išpilstymas, užkimšimas, pirminė mechaninių priemaišų kontrolė; paženklinimas);

IV. Sterilizavimas;

V. Kokybės kontrolė (pakartotinė mechaninių priemaišų kontrolė; fizinių-cheminių duomenų analizė; defektavimas);

VI. Apipavidalinimas (etikečių klijavimas, kontrolė) [20].

Gliukozės parenteralinių preparatų gamybos etapai [17, 20]:

I. Paruošiamieji darbai (patalpų, pagalbinių medžiagų, įrengimų, taros bei kamščių paruošimas, personalo pasirengimas darbui; vaistinių medžiagų paruošimas);

II. Tirpalo gamyba. Tirpalas gaminamas atsižvelgiant į kristalizacinio vandens kiekį gliukozėje, hidratinė gliukozė tirpinama, esant 50–60°C temperatūrai ir pridedama aktyvintosios anglies, apdorotos vandenilio chlorido rūgštimi. Priemaišos šalinamos pridedant aktyvintosios anglies, maišant ir filtruojant. Tirpalas užvirinamas, atvėsinamas iki 60°C temperatūros. Pridedama aktyvintosios anglies ir vėl filtruojama. Į tirpalą dedama Veibelio stabilizatoriaus (5 % bendrojo gliukozės tirpalo tūrio).

Veibelio stabilizatorius:

|  |         |
|--|---------|
| Natrio chloridas                       | 5,2 g   |
| Praskiesta vandenilio chlorido rūgštis | 4,4 ml  |
| Injekcinis vanduo                      | iki 1 l |

III. Tirpalo filtravimas ir fasavimas. Tirpalas analizuojamas, filtruojamas, pilamas į ampules ar kitas talpyklas.

IV. Sterilizavimas. Sterilizuojama gariniame sterilizatoriuje, esant 100–120°C

temperatūrai 1 val.

V. Kokybės kontrolė. Tikrinamas tirpalo klampumas, skaidrumas, terpės pH (turi būti 3,0–4,0), apirogeniškumas ir sterilumas.

VI. Apipavidalinimas (etikečių klijavimas, kontrolė).

### **1.3.5. Gliukozės tirpalų stabilumas**

#### ***1.3.5.1. Vaistinių preparatų stabilumo svarba***

Veikliųjų medžiagų stabilumas yra pagrindinis veiksnys apsprendžiantis parenteralinio preparato tinkamumą vartoti laiką. Pirmiausia, neišsprendžiant stabilumo problemų, nėra užtikrinama, kad preparatas tinkamas vartoti visą jo galiojimo laiką, nurodytą ant pakuotės. Preparato sudėtyje esančių veikliųjų medžiagų skilimo produktai gali daryti įtaką preparato išvaizdai (spalvai, nuosėdų atsiradimui) arba bioprieinamumui. Galiausiai, skylančių veikliųjų medžiagų produktai gali pasižymėti toksiškumu, kuris gali būti didesnis negu, kad pačios veikliosios medžiagos. Kai priemaišos ar skilimo produktai identifikuojami kaip potencialiai genotoksiški, jie yra griežtai kontroliuojami, leidžiami minimalūs kiekiai arba jų buvimas yra visiškai negalimas. Todėl yra labai svarbu suprasti ir numatyti degradacijos procesus, kinetiką, mechanizmus, tai veda prie stabilių vaistinių preparatų vystymo. [21]

#### ***1.3.5.2. Gliukozės tirpalų stabilumo problemos***

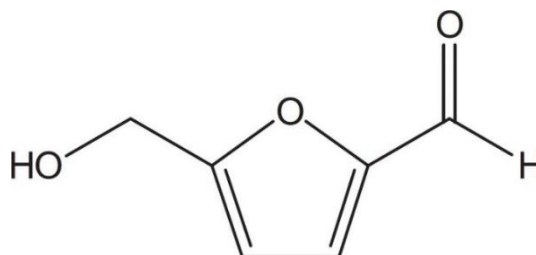
Sterilizuojami ir ilgai laikomi gliukozės tirpalai darosi nestabilūs, jie oksiduojasi ir karamelizuoja, pakinta tirpalų spalva – susidaro gliukozės skilimo produktai (GSP (*angl. glucose degradation products, GDP*)). [17, 20, 22] Jei gliukozės tirpalo pH yra nuo 1,0 iki 3,0, susidaro aldehidai oksimetilfurfurolas, kuriam būdinga geltona spalva. Kai pH reikšmė yra nuo 3,0 iki 5,0, gliukozės skilimo reakcijos sulėtėja. Gliukozės tirpalai labai nestabilūs šarminėje terpėje ir veikiant deguoniui susidaro oksirūgštys bei oksimetilfurfurolas. [17, 20] Gliukozės nestabilumas pasireiškia ir skystoje terpėje – susidaro D-gliukono rūgštis ir jos laktonai, kuriems oksiduojantis susidaro 5-hidroksimetilfurfurolas (HMF), todėl tirpalas pagelsta. Gliukozės tirpalams stabilizuoti naudojamas Veibelio stabilizatorius, jo dedama 5 % gliukozės tirpalo tūrio, nepriklausomai nuo gliukozės koncentracijos tirpale [17, 20]. Vandenilio chlorido rūgštis stabdo gliukozės oksidavimą šarminėje terpėje, neutralizuoja iš flakonų stiklo išsiskiriantį šarmą ir sudaro optimalią tirpalo pH reikšmę

(optimali gliukozės tirpalo pH reikšmė yra 3,0–4,0), o natrio chloridas jungiasi su aldehydine gliukozės grupe ir sudaro kompleksinius junginius taip apsaugodamas ją nuo oksidacijos [17].

Sunkieji metalai (varis, geležis), greitina gliukozės skilimo procesą, todėl siekiant pagaminti stabilius tirpalus, sunkieji metalai ir spalvoti produktai šalinami dukart valant aktyvintą anglimi [17, 20].

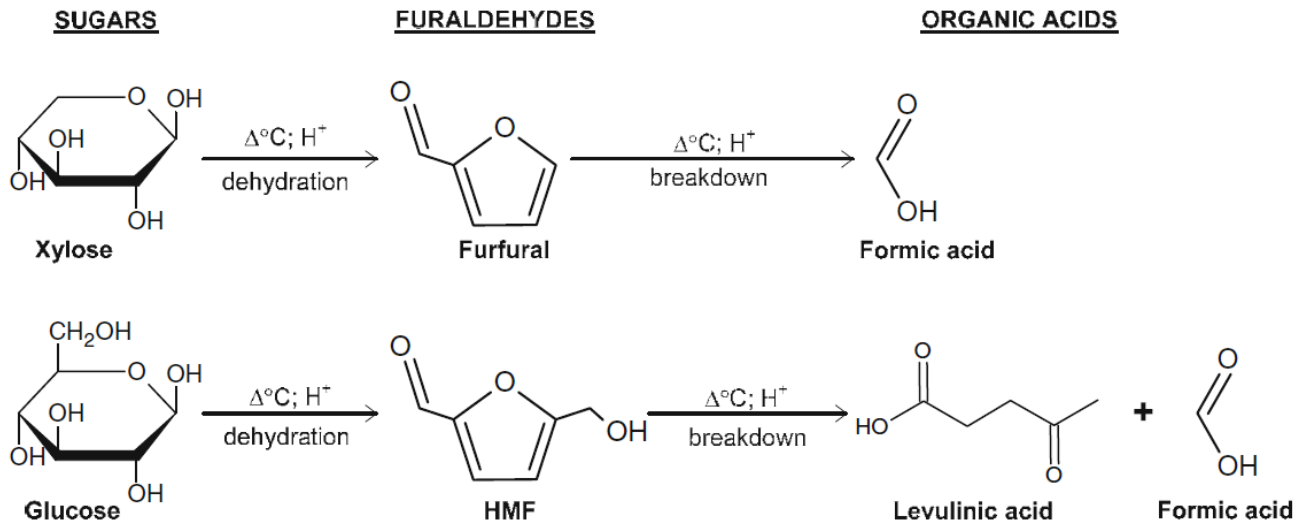
### 1.3.5.3. Gliukozės skilimo produktai

Kaip jau minėta anksčiau, sterilizuojant karščiu, esant rūgštinei (pH<3) ar šarminei terpei, laikymo metu, gliukozės tirpaluose susidaro gliukozės skilimo produktai. Dažniausiai nustatomi GSP yra hidroksimetilfurfurolas, levulino rūgštis, skruzdžių rūgštis, etanalis, acetaldehidas, pentanalis, 3-deoksigliukozonas, metilglioksalis ir kt. [22, 23] Pagrindinis skilimo produktas yra hidroksimetilfurfurolas (2 pav.), pagal jo kiekį gliukozės tirpale galima įvertinti gliukozės tirpalų kokybę. Taip pat pagal HMF kiekį įvertinama ir medaus kokybė, jeigu HMF kiekis meduje viršija nustatytas normas, galima daryti išvadą apie nekokybišką medų, t.y. apie neužtikrintas tinkamas laikymo sąlygas. [24, 25, 26]



2 pav. Hidroksimetilfurfurolo (HMF) struktūrinė formulė [27]

Hidroksimetilfurfurolas (sinonimai: 5-hidroksimetilfurfurolas, 5-hidroksimetil-2-furalaldehidas, 5-oksimetilfurfurolas) furano junginys, prie furano žiedo turintis aldehydinę ir alkoholinę grupes [28]. HMF susidaro dehidratuojant gliukozei (3 pav.)



**3 pav. Gliukozės skilimo produktų susidarymas (apatinė eilutė) [29]**

HMF yra laikomas kaip dirginanti medžiaga, gali sukelti akių, viršutinių kvėpavimo takų, odos bei gleivinių dirginimą. Dirginantis poveikis gali pasireikšti įkvėpus, prarijus medžiagą, taip pat medžiagai absorbuojantis per odą. [28] Atliktuose tyrimuose su pelėmis, žiurkėmis ir šunimis, buvo pastebėtas keletas toksinių poveikių – kepenų adenoma, kepenų fermentų padidėjimas, blužnies padidėjimas. [28, 30]

#### **1.3.5.4. Gliukozės skilimo produktų nustatymas**

Gliukozės skilimo produktų, tokių kaip HMF, nustatymui bei kiekybiniam įvertinimui paprastai naudojama efektyvioji skysčių chromatografija (*angl. high performance liquid chromatography – HPLC*). Šis metodas dažniausiai naudojamas ir pagreitintuose stabilumo tyrimuose (padidintos temperatūros, drėgmės ar pH sąlygomis). HMF nustatymui taip pat gali būti naudojami jonų chromatografijos, dujų chromatografijos bei UV spektroskopijos metodai. [21, 28, 31]

## **1.4. Apibendrinimas**

Gliukozė yra pagrindinis ląstelių energijos šaltinis, galutiniai skilimo produktai yra vanduo ir anglies dioksidas, dėl šių priežasčių gliukozės tirpalai injekcijoms yra naudojami parenteriniam maitinimui, hipoglikemijai ir dehidratacijai gydyti.

Sterilizuojant karščiu ir esant netinkamai gliukozės tirpalų pH reikšmei, gliukozės tirpaluose formuojasi gliukozės skilimo produktai. Svarbiausias GSP yra hidroksimetilfurfurolas, kurį nustatčius ESC ar UV spektrofotometrijos metodu, galima įvertinti gliukozės tirpalų kokybę bei stabilumą.

Yra aktualu įvertinti liginės vaistinėje gaminamų gliukozės tirpalų injekcijoms stabilumą, nustatyti tinkamumo vartoti terminus, siekiant užtikrinti, kad pacientams būtų tiekiamas kokybiškas, saugus ir veiksmingas preparatas.

## **2. TYRIMO METODIKA**

### **2.1. Tyrime naudotos medžiagos ir įranga**

#### **2.1.1. Naudotos medžiagos**

- 10 % gliukozės injekcinis tirpalas;
- 40 % gliukozės injekcinis tirpalas;
- Išgrynintas vanduo;
- Amonio hidroksidas (Sigma–Aldrich, Vokietija);

#### **2.1.2. Naudota įranga**

- 1 ml ir 10 ml automatinės pipetės Eppendorf Research plus;
- pH matuoklis Knick pH – Meter 766, Calimatic (skirtas matuoti tirpalų pH);
- Spektrofotometras Agilent 8453 UV–Vis (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, JAV);
- Poliarimetras A. KRUSS Optronic GmbH-P8000;
- Klimato kameros Binder, GmbH;

### **2.2. Gliukozės tirpalų gamyba vaistinėje**

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų vaistinėje gaminami 5 %, 10 %, 20 % ir 40 % koncentracijos gliukozės tirpalai injekcijoms (1 lentelė).

**1 lentelė. LSMUL Kauno klinikų vaistinėje gaminamų gliukozės tirpalų injekcijoms koncentracijos ir tūriai.**

| <b>Gliukozės koncentracija</b> | <b>Tūris</b> |
|--------------------------------|--------------|
| 5 %                            | 100 ml       |
|                                | 250 ml       |
|                                | 500 ml       |
| 10 %                           | 100 ml       |
|                                | 250 ml       |
|                                | 500 ml       |
| 20 %                           | 100 ml       |
|                                | 250 ml       |
|                                | 500 ml       |
| 40 %                           | 100 ml       |

Gliukozės tirpalų injekcijoms gamyba vyksta, laikantis Geros vaistinių praktikos (GVP) reikalavimų. Gliukozės tirpalai gaminami pagal bendrą vaistinės sterilių serijinių tirpalų gamybos schemą, gliukozės injekcinių tirpalų gamybos eiga pateikiama 1 paveiksle. Informacija apie pagamintas gliukozės tirpalų serijas pateikiama serijos gamybos aprašuose, kurie registruojami serijos gamybos aprašų apskaitos žurnale.

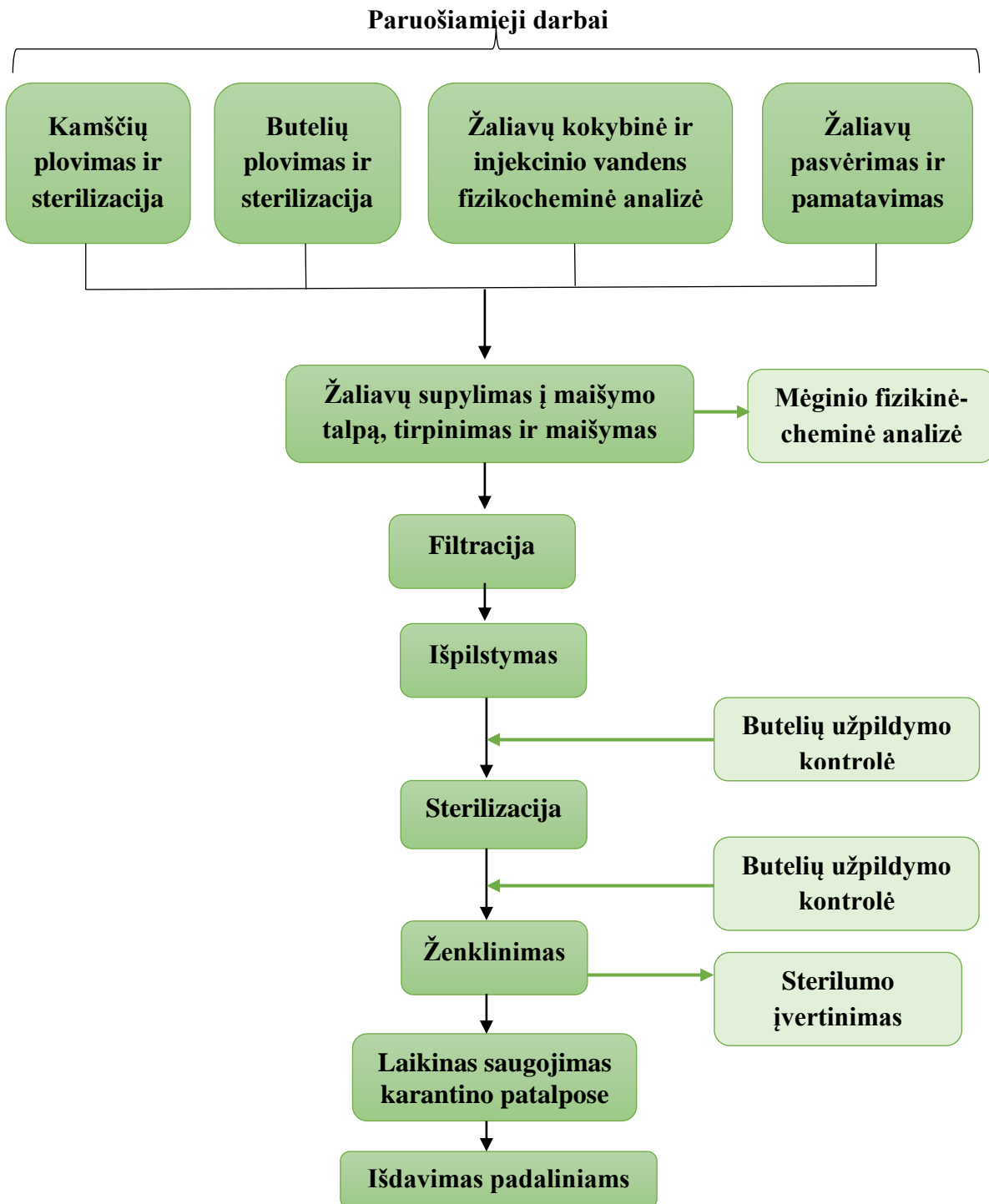
Gliukozės tirpalų injekcijoms gamybos eigos aprašyme, kaip pavyzdys, pateikiamas 100 ml talpos 5 % gliukozės infuzinio tirpalo gamybos eigos aprašymas.

*Sol. Dextrosi 5 %:*

- *Dextrosum anhydricum 5,0*
- *Natrii chloridi 0,026*
- *Ac. Hydrochloridum 0,1M ad pH (3,0-4,1)*
- *Aqua ad iniectabilia ad 100 ml*

Serijos dydis 100 x 100 ml (10 litrų 5 % gliukozės tirpalo injekcijoms).

*1 pav. Gliukozės tirpalų injekcijoms gamybos eigos schema.*



Pirmiausia atliekami paruošiamieji darbai. Pagal instrukciją išplaunami ir plaunami plovimo mašinose 100 vienetų kamščių, kurie vėliau sterilizuojami. Pagal instrukciją išplaunami 100 butelių po 100 ml, jie vėliau pagal instrukciją išsterilizuojami, išplaunami plovimo mašinose.



Prieš gamybą atliekama žaliavų kokybės analizė, esant nekokybiškoms žaliavoms (pavyzdžiui, jei nustatomas gliukozės mikrobiologinis užterštumas), žaliavos grąžinamos tiekėjui. 10 litrų gliukozės 5 % tirpalas gaminamas 20 litrų metalinėje talpoje. Prieš pildant talpą patikrinama ar ji tuščia, patikrinus užpildoma vandeniu injekcijoms 1/3 jos tūrio. Analitikė atlieka injekcinio vandens fizikocheminę analizę. Atskiroje patalpoje pasveriamas reikiamas kiekis gliukozės monohidrato, kurio santykinė drėgmė 9 %, natrio chlorido, pamatuojamas reikiamas kiekis 0,1M HCl tirpalo. Maišant, į 20 litrų metalinę tirpalų gamybos talpą, supilamos pasvertos ir pamatuotos vaistinės medžiagos, pripilama vandens injekcijoms iki 10 litrų, maišoma 10 minučių. Paimamas tirpalo mėginys fizikinei cheminei analizei.

Pagaminto tirpalo filtravimui naudojami metilceliuliozės filtrai ir priešfiltrai. Serijos gamybos aprašyme būtina nurodyti filtro ir priešfiltrio markę: filtro markė – HAWP 14250, LOT WR 1JA55770; priešfiltrio markė – HP1512450, LOT WR 1CA54287. Kai iš analitikės gaunamas atsakymas apie tinkamą tirpalo pH, pradedamas filtravimas ir išpilstymas. Tirpalas išpilstomas į anksčiau paruoštus bespalvius 100 ml stiklo buteliukus. Naudojami stikliniai buteliukai, kurie priskiriami I-ai stiklinių talpyklų kategorijai (skirstymas pagal Eur. Ph, pagal stiklinių talpyklų hidrolitinį atsparumą; I-a klasė: neutralus stiklas, aukštas hidrolitinis atsparumas, kurį lemia paties stiklo cheminė savybė (Eur. Ph. 3.3.1.)). Buteliukai užpildomi iki reikiamo tūrio ir užkemšami. Dokumentuose pažymimas pilstymo pradžios laikas, pilstymo tūris ( $100 \pm 1,0$  ml), naudojamų kamščių sterilizavimo data ir sterilizavimo ciklo numeris. Išpilsčius tirpalą atliekama butelių užpildymo kontrolė (prieš lempą tikrinamas kas 30-as butelis ir būtinai tikrinamas paskutinis butelis). Patikrinti buteliai užkapsuliuojami ir dedami ant lentynų, ant kiekvienos butelių eilės užklijuojamos išorinės cheminių indikatorių juostos, ant kurių užrašoma pagaminto tirpalo pavadinimas, koncentracija, serijos numeris. Serijos gamybos aprašyme pažymima kada sterilizacijai paruoštas paskutinis butelis ir koks sterilizacijai dedamų butelių skaičius. Dar kartą patikrinama ar užklijuotos sterilizacijos kontrolės indikatorių juostos. Kritiniuose taškuose į butelius įdedami kontroliniai jutikliai ir paleidžiama sterilizacijos programa P2. Serijos gamybos apraše pažymimas sterilizacijos pradžios ir pabaigos laikas. Įvertinami kiekvieno sterilizacijos ciklo kritiniai parametrai, jų kitimo registracijos lapai pridedami prie serijos gamybos aprašo dokumentų. Po sterilizacijos įvertinama cheminių sterilizacijos kontrolės indikatorių juostų spalvos pasikeitimas, atliekama butelių vizualinė kontrolė. Kontrolė atliekama vizualiai prieš juodo fono skydą patikrinant tirpalų mechaninį užterštumą. Patikrinti buteliai ženklinami. Reikiamas kiekis butelių paliekamas kontrolei, o likusieji buteliai vežami į karantino patalpas.

Paimami buteliai kontrolei:

- a) tirpalo sterilumui įvertinti LSMU ligoninės VŠĮ KK mikrobiologijos laboratorijoje;

- b) fizikinei cheminei analizei (paskutinis butelis);
  - išvaizdos įvertinimui;
  - koncentracijos nustatymui;
  - pH reikšmės nustatymui;
- c) arbitražinei analizei – 3 buteliai.

### **KK vaistinėje gaminamų gliukozės tirpalų kokybės įvertinimas**

Sol. Dextrosi 5 % – 100 ml:

- Dextrosum anhydricum 5,0
- Natrii chloridi 0,026
- Ac. Hydrochloridum 0,1M ad pH (3,0-4,1)
- Aqua ad iniectionabilia ad 100 ml

Gamyboje naudojamas gliukozės monohidratas (santykinė drėgmė 9 %). Prieš gamybą atliekamas vandens ir gliukozės kokybės įvertinimas (vandeniui pagal Ph. Eur., gliukozei atliekamas tapatybės nustatymas ir mikrobiologinis tyrimas).

### **Gliukozės tirpalo injekcijoms kokybės įvertinimas**

Pagaminus tirpalą (prieš sterilizaciją) nustatoma:

- tirpalo pH reikšmė (ribos yra nuo 3,0 iki 4,1),
- gliukozės koncentracija refraktometrijos metodu (ribos pagal Ph. Eur.  $\pm 5$  %, tačiau vaistinėje leidžiamas koncentracijos nuokrypis yra  $\pm 3\%$ ),
- natrio chlorido kiekis argentometrijos metodu.

Po sterilizacijos taip pat nustatoma:

- tirpalo pH reikšmė (ribos nuo 3,0 iki 4,1),
- gliukozės koncentracija refraktometrijos metodu (leidžiamas koncentracijos nuokrypis  $\pm 3$  %),
- NaCl kiekis argentometrijos metodu,
- nustatomas mikrobiologinis grynumas LSMU ligoninės VŠĮ KK mikrobiologijos laboratorijoje (tik gavus duomenis iš mikrobiologijos laboratorijos apie mikrobiologinį grynumą, tirpalai išduodami vartojimui).

## 2.3. Stabilumo tyrimas

Stabilumo tyrimai atliekami remiantis ICH Q1A(R2) gairėmis [32]. Stabilumo tyrimui naudojamos trys 10 % gliukozės tirpalų serijos (I serija – 6481512, II serija – 6571512, III serija – 0231601) ir trys 40 % gliukozės tirpalų serijos (I serija – 0051601, II serija – 0391601, III serija – 0551602). Atliekamas ilgalaikis ir pagreitintas stabilumo tyrimai:

- Ilgalaikis stabilumo tyrimas. 10 % ir 40 % gliukozės tirpalai laikomi klimatinėje spintoje, kurioje palaikoma  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  temperatūra ir  $60\pm 5$  proc. santykinė drėgmė. Vertinama tirpalų išvaizda, matuojama gliukozės koncentracija, priemaišų kiekis, pH.

- Pagreitintas stabilumo tyrimas. 10 % ir 40 % gliukozės tirpalai laikomi klimatinėje spintoje, kurioje palaikoma  $40\pm 2^{\circ}\text{C}$  temperatūra ir  $75\pm 5$  proc. santykinė drėgmė. Taip pat vertinama tirpalų išvaizda, matuojama gliukozės koncentracija, priemaišų kiekis, pH.

Tyrimo periodiškumas pateiktas 1 ir 2 prieduose.

## 2.4. Analizės metodai

### 2.4.1. Gliukozės tirpalų kiekybinis įvertinimas poliarimetrijos metodu

Remiantis USP monografijoje aprašyta metodika [9], gliukozės tirpalų kiekybinis įvertinimas buvo atliekamas poliarimetrijos metodu.

Pamatuojamas tikslus infuzinio tirpalo kiekis, kuriame būtų nuo 2 iki 5 g gliukozės. Pasirinkta 3 g, todėl 10 proc. tirpalo pamatuojama 30 ml, o 40 proc. – 7,5 ml. Pamatuotas tirpalo kiekis perkeliamas į 100 ml matavimo kolbą, pridedama 0,2 ml 6 N amonio hidroksido, praskiedžiama vandeniu iki žymės ir sumaišoma. Nustatomas sukimosi kampas, naudojant tinkamą poliarimetro vamzdelį, tyrimo metu naudotas 100 mm vamzdelis. Matavimai kartoti tris kartus ( $n=3$ ). Gliukozės procentinis kiekis (g/100ml) apskaičiuojamas taikant formulę:

$$\left(\frac{100}{52,9}\right) \left(\frac{198,17}{180,16}\right) \times A \times R$$

kur:

52,9 – bevandenės gliukozės specifinio optinio sukimo vidurkis išreiktas laipsniais;

198,17 – gliukozės monohidrato molekulinė masė;

180,16 – bevandenės gliukozės molekulinė masė;

A – 100 mm padalinta iš poliarimetro vamzdelio ilgio (mm);

R – nustatytas optinio sukimo kampas, išreikštas laipsniais;

#### **2.4.2. Priemaišų nustatymas UV spektrofotometrijos metodu**

UV spektrofotometrijos metodu nustatomas hidroksimetilfurfurolo kiekis. Tiksliai pamatuotas infuzinio tirpalo kiekis, atitinkantis 1,0 g gliukozės monohidrato, praskiedžiamas vandeniu iki 250,0 ml. Tirpalo absorbcija matuojama spektrofotometru naudojant 1 cm kiuvetę prie 284 nm bangos ilgio, kaip lyginamąjį tirpalą naudojant vandenį: absorbcija turi būti ne didesnė nei 0,25. [9]

#### **2.4.3. pH nustatymas**

Gliukozės tirpalų pH buvo matuojamas pH matuokliu Knick pH – Meter 766, Calimatic. Tirpalų pH reikšmė matuota įmerkiant pH elektrodą į gliukozės tirpalų butelius.

#### **2.5. Statistinė analizė**

Gautų tyrimų duomenų apdorojimui naudota Microsoft Office Excel 2013 programa, skaičiuoti vidurkiai, standartiniai nuokrypiai. Rezultatų skirtumų reikšmingumas nustatytas pagal Student's t testą, skirtumai statistiškai reikšmingi, kai  $p < 0,05$ .

### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1. Gliukozės infuzinių tirpalų stabilumo tyrimai

Gliukozės 10 proc. ir 40 proc. infuziniams tirpalams atliktas ilgalaikis stabilumo tyrimas ir pagreitintas stabilumo tyrimas. Gauti stabilumo tyrimų rezultatai lyginami su rodikliais, nustatytais rengiant gliukozės injekcinių tirpalų specifikaciją. Įvertinus gautų rezultatų atitikimą nustatytoms riboms, daroma išvada apie gliukozės tirpalų kokybę ir tinkamumą vartoti.

##### 3.1.1. Ilgalaikis stabilumo tyrimas

Pagaminti 10 proc. ir 40 proc. gliukozės tirpalai buvo laikomi klimatinėje kameroje (Binder, GmbH). Kameroje buvo palaikomos įprastinės laikymo sąlygos, t.y.  $60\pm 5$  proc. santykinė drėgmė ir  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  temperatūra. 2 ir 3 lentelėse pateikiami gliukozės kiekybinio nustatymo rezultatai.

*2 lentelė. 10 proc. gliukozės infuzinių tirpalų kiekybinio nustatymo rezultatai, laikant ilgalaikio stabilumo tyrimo sąlygomis ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  temperatūra ir  $60\pm 5$  proc. santykinė drėgmė).*

| Serija     | Matavimai       | Pradinis taškas    | Po 1 mėn.          | Po 2 mėn.          | Po 3 mėn.          | Po 4 mėn.          |
|------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| I serija   | pH              | 3,28               | 3,56               | 3,26               | 3,25               | 3,23               |
|            | Kiekis $\pm$ SD | 10,248 $\pm$ 0,021 | 10,339 $\pm$ 0,005 | 10,164 $\pm$ 0,005 | 10,237 $\pm$ 0,006 | 10,092 $\pm$ 0,024 |
| II serija  | pH              | 3,33               | 3,28               | 3,31               | 3,27               | 3,25               |
|            | Kiekis $\pm$ SD | 10,248 $\pm$ 0,019 | 10,239 $\pm$ 0,005 | 10,206 $\pm$ 0,008 | 10,185 $\pm$ 0,016 | 10,158 $\pm$ 0,000 |
| III serija | pH              | 3,27               | 3,25               | 3,26               | 3,25               | 3,23               |
|            | Kiekis $\pm$ SD | 10,158 $\pm$ 0,005 | 10,225 $\pm$ 0,016 | 10,164 $\pm$ 0,036 | 10,204 $\pm$ 0,024 | 10,170 $\pm$ 0,015 |

**3 lentelė. 40 proc. gliukozės infuzinių tirpalų kiekybinio nustatymo rezultatai, laikant ilgalaikio stabilumo tyrimo sąlygomis ( $25\pm 2^\circ\text{C}$  temperatūra ir  $60\pm 5$  proc. santykinė drėgmė).**

| Seriija        | Matavimai       | Pradinis taškas    | Po 1 mėn.          | Po 2 mėn.          | Po 3 mėn.          | Po 4 mėn.          |
|----------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| I<br>seriija   | pH              | 3,4                | 3,14               | 3,14               | 3,11               | 3,09               |
|                | Kiekis $\pm$ SD | 41,437 $\pm$ 0,041 | 41,117 $\pm$ 0,093 | 41,386 $\pm$ 0,272 | 40,975 $\pm$ 0,126 | 40,882 $\pm$ 0,094 |
| II<br>seriija  | pH              | 3,33               | 3,12               | 3,10               | 3,08               | —                  |
|                | Kiekis $\pm$ SD | 41,361 $\pm$ 0,021 | 40,765 $\pm$ 0,504 | 41,285 $\pm$ 0,217 | 41,101 $\pm$ 0,537 | —                  |
| III<br>seriija | pH              | 3,11               | 3,12               | 3,12               | 3,08               | —                  |
|                | Kiekis $\pm$ SD | 40,991 $\pm$ 0,154 | 41,529 $\pm$ 0,265 | 41,378 $\pm$ 0,124 | 41,319 $\pm$ 0,137 | —                  |

Tyrimo metu, abiejų koncentracijų tiriamųjų tirpalų išvaizda nepakito. Tirpalai liko skaidrūs, bespalviai, iškritusių nuosėdų nepastebėta.

Po 3 mėnesių 10 proc. I serijoje reikšmingų gliukozės kiekio pokyčių nenustatyta ( $p>0,05$ ), tačiau po 4 mėnesių nustatytas reikšmingas pokytis ( $p<0,05$ ), nors gliukozės kiekio sumažėjimas neviršijo  $\pm 5$  proc. ribos. II-oje serijoje nustatytas reikšmingas pokytis ( $p<0,05$ ) jau po 3 mėnesių, tačiau tiek po 3 mėn., tiek po 4 mėn. šis pokytis neviršijo nustatytos  $\pm 5$  proc. ribos. Tiriant III serijos tirpalus reikšmingų pokyčių nenustatyta.

Vertinant 40 proc. gliukozės tirpalų ilgalaikio stabilumo tyrimo rezultatus, nustatyta, kad I serijoje jau po 3 mėnesių pastebimas reikšmingas ( $p<0,05$ ) gliukozės kiekio sumažėjimas, tačiau jis tiek po 3 mėn., tiek po 4 mėn. neviršija nustatytos  $\pm 5$  proc. ribos. II ir III serijų tirpaluose per pirmuosius tris mėnesius gliukozės kiekio pokyčiai išliko priimtinosiose ribose ( $p>0,05$ ). II ir III serijos gliukozės tirpalų duomenų apie gliukozės kiekio pokyčius po 4 mėnesių nėra, kadangi terminai sueina 2016-05-22 ir 2016-06-02, todėl pagal I seriją negalima spręsti apie gliukozės tirpalų stabilumą po 4 mėnesių.

LSMU Kauno klinikų vaistinėje gaminami gliukozės tirpalai injekcijoms, kurių pH turi atitikti ribas nuo 3,0 iki 4,1, kaip matyti iš tyrimo rezultatų, tiek 10 proc., tiek 40 proc. gliukozės tirpalai atitiko šias ribas (reikšmės yra intervale nuo 3,08 iki 3,4).

### 3.1.2. Pagreitintas stabilumo tyrimas

Pagreitinto stabilumo tyrimo metu, pagaminti 10 proc. ir 40 proc. gliukozės tirpalai taip pat buvo laikomi klimatinėje kameroje, kurioje buvo palaikoma  $40\pm 2^{\circ}\text{C}$  temperatūra bei  $75\pm 5$  proc. santykinė drėgmė. Gauti pagreitinto stabilumo tyrimo rezultatai pateikiami 4 lentelėje ir 5 lentelėje.

Pagreitinto stabilumo tyrimo metu 10 proc. ir 40 proc. gliukozės tirpalų injekcijoms išvaizda nepakito. Tirpalai, kaip ir tyrimo pradžioje, liko skaidrūs bespalviai, mechaninių dalelių nepastebėta. Tirpalų pH reikšmė ženkliai nepakito, atitinka nustatytas ribas, kurios yra nuo 3,0 iki 4,1, o tiriamųjų tirpalų pH reikšmės yra intervale nuo 3,05 iki 3,42.

Iš gautų pagreitinto stabilumo tyrimo rezultatų matyti, kad po 4 mėnesių 10 proc. ir 40 proc. gliukozės tirpaluose gliukozės kiekio pokyčiai neviršija nustatytų  $\pm 5$  procentų ribos, išskyrus atvejį, kai tiriant 10 proc. I serijos tirpalą po 1 mėnesio, buvo nustatytas beveik 9,55 proc. didesnis gliukozės kiekis nei tos pačios serijos pradiniam taške. Kadangi nustatytas tik vienas toks atvejis, tai jį būtų galima vertinti kaip netikslumą, kuris neatitinka bendrų gautų rezultatų tendencijų.

**4 lentelė. 10 proc. gliukozės infuzinių tirpalų kiekybinio nustatymo rezultatai, laikant pagreitinto stabilumo tyrimo sąlygomis ( $40\pm 2^{\circ}\text{C}$  temperatūra ir  $75\pm 5$  proc. santykinė drėgmė).**

| Serija     | Matavimai       | Pradinis taškas    | Po 2 sav.          | Po 1 mėn.          | Po 2 mėn.          | Po 3 mėn.          | Po 4 mėn.          |
|------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| I serija   | pH              | 3,28               | 3,28               | 3,42               | 3,27               | 3,27               | 3,23               |
|            | Kiekis $\pm$ SD | 10,248 $\pm$ 0,021 | 10,248 $\pm$ 0,021 | 11,227 $\pm$ 0,003 | 10,281 $\pm$ 0,021 | 10,288 $\pm$ 0,013 | 10,118 $\pm$ 0,012 |
|            |                 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| II serija  | pH              | 3,33               | 3,33               | 3,3                | 3,31               | 3,26               | 3,23               |
|            | Kiekis $\pm$ SD | 10,248 $\pm$ 0,019 | 10,342 $\pm$ 0,017 | 10,395 $\pm$ 0,008 | 10,420 $\pm$ 0,058 | 10,357 $\pm$ 0,026 | 10,122 $\pm$ 0,028 |
|            |                 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| III serija | pH              | 3,27               | 3,27               | 3,26               | 3,28               | 3,25               | 3,24               |
|            | Kiekis $\pm$ SD | 10,158 $\pm$ 0,005 | 10,420 $\pm$ 0,003 | 10,269 $\pm$ 0,021 | 10,258 $\pm$ 0,036 | 10,298 $\pm$ 0,023 | 10,153 $\pm$ 0,023 |



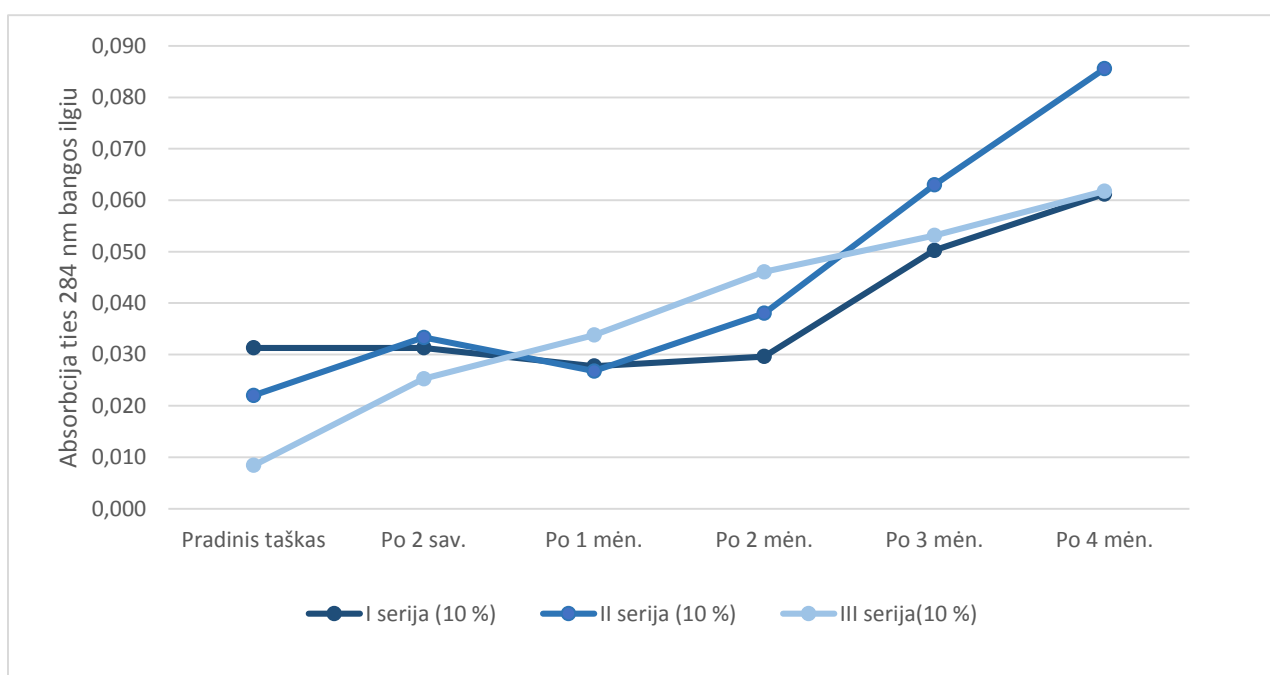
*5 lentelė. 40 proc. gliukozės infuzinių tirpalų kiekybinio nustatymo rezultatai, laikant pagreitinto stabilumo tyrimo sąlygomis ( $40\pm 2^{\circ}\text{C}$  temperatūra ir  $75\pm 5$  proc. santykinė drėgmė).*

| Serija     | Matavimai       | Pradinis taškas    | Po 2 sav.          | Po 1 mėn.          | Po 2 mėn.          | Po 3 mėn.          | Po 4 mėn.          |
|------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| I serija   | pH              | 3,40               | 3,31               | 3,14               | 3,17               | 3,10               | 3,05               |
|            | Kiekis $\pm$ SD | 41,437 $\pm$ 0,041 | 40,773 $\pm$ 0,012 | 41,269 $\pm$ 0,354 | 40,958 $\pm$ 0,054 | 40,949 $\pm$ 0,043 | 40,941 $\pm$ 0,066 |
|            |                 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| II serija  | pH              | 3,33               | 3,13               | 3,13               | 3,07               | 3,05               | —                  |
|            | Kiekis $\pm$ SD | 41,361 $\pm$ 0,021 | 41,252 $\pm$ 0,177 | 41,025 $\pm$ 0,097 | 40,966 $\pm$ 0,106 | 40,907 $\pm$ 0,215 | —                  |
|            |                 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| III serija | pH              | 3,13               | 3,11               | 3,11               | 3,09               | 3,08               | —                  |
|            | Kiekis $\pm$ SD | 40,991 $\pm$ 0,154 | 40,991 $\pm$ 0,154 | 41,143 $\pm$ 0,083 | 41,176 $\pm$ 0,113 | 41,487 $\pm$ 0,074 | —                  |

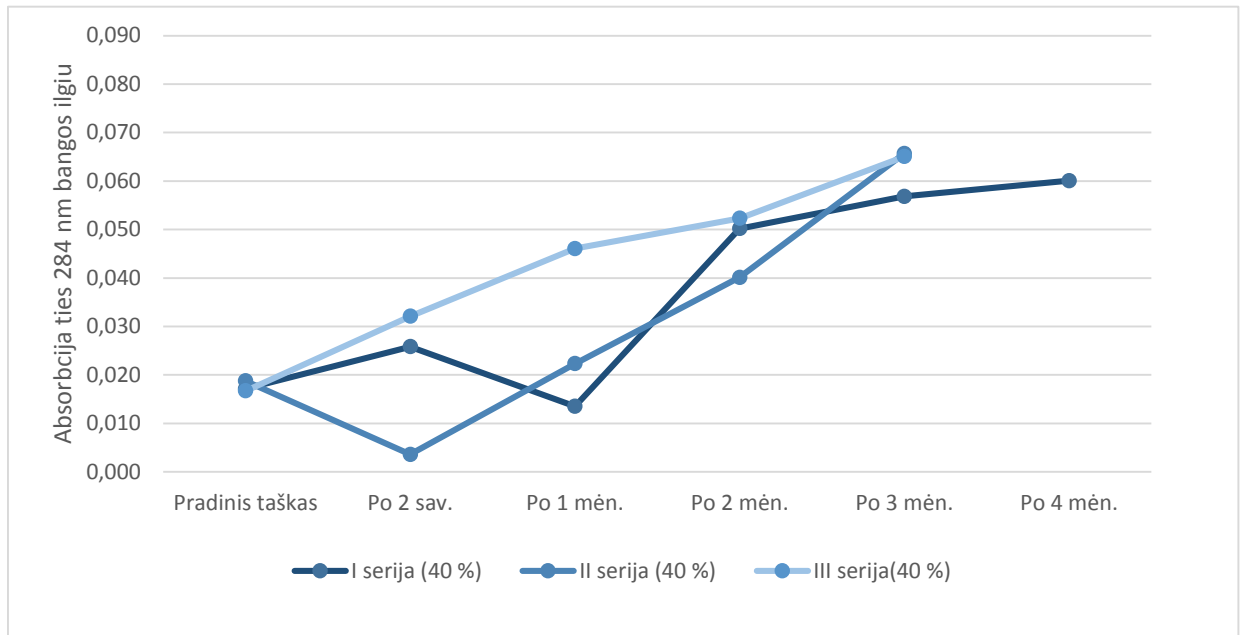
### 3.2. Gliukozės skilimo produktų nustatymas

Atliekant gliukozės tirpalų injekcijoms ilgalaikį ir pagreitintą stabilumo tyrimus, buvo vertintas susidariusio gliukozės skilimo produkto – hidroksimetilfurfurolo – kiekis. Įvertinus gautus rezultatus, nustatyta, kad abiejų koncentracijų gliukozės tirpaluose tiek ilgalaikio, tiek pagreitinto stabilumo tyrimų metu susidaręs hidroksimetilfurfurolo kiekis išlieka priimtinos ribose. Pagal USP reikalavimus absorbcija neturi būti didesnė nei 0,250, pagreitinto stabilumo tyrimo metu nustatytos reikšmės buvo intervale nuo 0,008 iki 0,086 (10 % tirpaluose) ir nuo 0,004 iki 0,066 (40 % tirpaluose) 2 ir 3 pav.

**2 pav. Hidroksimetilfurfurolo kiekis 10 proc. gliukozės tirpaluose injekcijoms pagreitinto stabilumo tyrimo metu.**



**3 pav.. Hidroksimetilfurfurolo kiekis 40 proc. gliukozės tirpaluose injekcijoms pagreitinto stabilumo tyrimo metu.**



### 3.3. Gliukozės tirpalų injekcijoms specifikacijos sudarymas

Remiantis Europos farmakopėjos monografijomis vaistinei medžiagai, injekciniams tirpalams, USP monografijomis gliukozės injekciniams tirpalams, ICH Q6A gairėmis bei gautais rezultatais, sudaroma gliukozės tirpalų specifikacija (6 lentelė). [2, 9, 33]

| KOKYBĖS<br>KONTROLĖS<br>PARAMETRAI       | REGLAMENTUOJAMOS RIBOS                                 |                                      | ATITIKIMAS<br>STANDARTAMS         |
|--|--|--------------------------------------|-----------------------------------|
|  | Pagaminus tirpalą                                      | Tinkamumo vartoti<br>laiko pabaigoje |                                   |
| <b>1. IŠVAIZDA</b>                       |  |                                      |                                   |
| Tirpalas injekcijoms                     | Skaidrus, bespalvis ar gelsvos spalvos skystis         |                                      | Vizualinė analizė                 |
| <b>2. IDENTIFIKAVIMO TESTAI</b>          |  |                                      |                                   |
| Gliukozė                                 | 1. Specifinis optinis sukimas<br>(nuo +52,5 iki +53,3) |                                      | Ph. Eur. 2.2.7                    |
| <b>3. KIEKYBĖS TESTAI</b>                |  |                                      |                                   |
| Gliukozės kiekis                         | <b>10 %</b>  | <b>10 %</b>                          | U.S.P. <781>                      |
|  | 9,5-10,0-10,5  | 9,5-10,0-10,5                        |                                   |
|  | <b>40 %</b>  | <b>40 %</b>                          |                                   |
|  | 38,0-40,0-42,0<br>(95 % - 105 %)                       | 38,0-40,0-42,0<br>(95 % - 105 %)     |                                   |
| <b>4. GRYNUMO TESTAI</b>                 |  |                                      |                                   |
| 5-HMF                                    | UV spektroskopija<br>(absorbicija ne didesnė nei 0,25) |                                      | U.S.P.                            |
| pH                                       | 3,0 – 4,1  |                                      | Gamintojo                         |
| <b>5. MIKROBIOLOGINIAI TESTAI</b>        |  |                                      |                                   |
| Sterilumo testas                         | Turi būti sterilus                                     |                                      | Ph. Eur. 2.6.1                    |
| <b>6. FARMACINĖS FORMOS TESTAI</b>       |  |                                      |                                   |
| Bakteriniai endotoksinai<br>– pirogenai. | Turi atitikti testą                                    |                                      | Ph. Eur. 2.6.14<br>Ph. Eur. 2.6.8 |

*6 lentelė. Gliukozės tirpalų injekcijoms specifikacija.*

### 3.4. Rezultatų apibendrinimas

Gliukozės 10 proc. ir 40 proc. tirpalų injekcijoms kiekybinis įvertinimas atliktas poliarimetrijos metodu. Tik pagamintų abiejų koncentracijų, kiekvienos serijos tirpalų koncentracija neviršijo nustatytos  $\pm 5$  % ribos, tai leidžia daryti išvadą, kad paruošiamieji gamybos darbai ir pats gamybos procesas vaistinėje atliekamas tinkamai.

Atlikus stabilumo tyrimus nustatyta, kad gliukozės tirpalai tiek ilgalaikio stabilumo tyrimo sąlygomis, tiek pagreitinto stabilumo tyrimo sąlygomis nepakeičia išvaizdos – lieka skaidrūs ir

bespalviai, o pH reikšmės neviršija nustatytų ribų (nuo 3,0 iki 4,1). Tyrimo metu nustatytų hidroksimetilfurfurolo kiekiai taip pat neviršija nustatytos ribos (absorbicija ne didesnė nei 0,25).

Ilgalaikio stabilumo tyrimo rezultatai parodė, kad gliukozės kiekio pokyčiai po tinkamumo vartoti laiko pasibaigimo (po 3 mėn.) ir po 4 mėnesių neviršija  $\pm 5$  proc. ribos. Atlikus pagreitinto stabilumo tyrimą, taip pat nustatyta, kad, po tinkamumo vartoti laiko pasibaigimo (po 3 mėn.) ir po 4 mėnesių, gliukozės kiekio pokyčiai neviršija  $\pm 5$  proc. ribos, išskyrus 10 proc. I serijos tirpale nustatytą beveik 9,55 proc. didesnę gliukozės kiekį, nei tos pačios serijos pradiniam taške tirtame tirpale. Kadangi tokio ženklus skirtumo nenustatyta nei tiriant toliau tos pačios serijos tirpalus, nei kitose serijose, reikėtų pakartoti tyrimą.

## 4. IŠVADOS

1. Įvertinus gliukozės fizikines-chemines savybes, gliukozės bei hidroksimetilfurfurolo kiekiui įvertinti, reikalingi jautrūs analizės metodai. Gliukozės tirpalai medicininiais tikslais naudojami dideliais kiekiais, todėl būtina griežta produkto kokybės kontrolė.
2. Sudaryta specifikacija kontroliuoti produkto kokybę. Į specifikaciją įtraukti bendrieji (išvaizda, pH) ir specifiniai (gliukozės bei hidroksimetilfurfurolo kiekiai) kokybės rodikliai yra pakankami užtikrinti produkto kokybę.
3. Gliukozės tirpalai injekcijoms išlieka stabilūs. Tirpalų kokybę apibūdinantys parametrai tyrimo metu kito priimtinos ribose. Įvertinus turimus tyrimų rezultatus, 10 proc. gliukozės tirpalų injekcijoms tinkamumo vartoti laikas gali būti 4 mėnesiai, 40 proc. – 3 mėnesiai, laikant ne aukštesnėje nei 25°C temperatūroje.
4. Per 4 pagreitinto stabilumo tyrimo mėn. nenustatytas didesnis rodiklių nuokrypis nei leidžiama, o bendros tendencijos nenurodo, kad kiltų grėsmė, kad po 6 mėn. nustatyti kokybės rodikliai viršys leidžiamas ribas, todėl tikėtina, kad produktai išliks stabilūs 6 mėn.

## **5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS**

Rekomenduojama tęsti gliukozės tirpalų injekcijoms tyrimus, siekiant ištirti galimas vaistinės medžiagos nestabilumo tendencijas, pagrįstiems tinkamumo vartoti terminams nustatyti.

Rekomenduojama tęsti stabilumo tyrimus ilgalaikio stabilumo tyrimo sąlygomis.

## 6. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Mayers RL. The 100 Most Important Chemical Compounds: A Reference Guide. Westport: Greenwood press. 2007. p. 161-4.
2. European Pharmacopoeia 8th edition, 8.6 supplement. Strasbourg: Council of Europe; 2016.
3. Dextrose. AHFS monographs [Internet] Available from: <http://www.drugs.com/monograph/dextrose.html>
4. D-Glucose. Open chemistry database [Internet] Available from: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/D-glucose>
5. The International Pharmacopoeia (Ph. Int.). Fourth Edition. 2006. p. 449-51.
6. United States Pharmacopoeia (USP) USP29-NF24 [Internet] Available from: [http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_m24180.html](http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m24180.html)
7. Glucose monohydrate structure [Internet] Available from: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/archives/fdaDrugInfo.cfm?archiveid=1081>
8. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Sixth edition. London/Chicago 2009 p .222-5
9. United States Pharmacopoeia (USP). Dextrose injection [Internet] Available from: [http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_m24230.html](http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m24230.html)
10. Chang WK, Chao YC, Yeh MK. Application of refractometry to quality assurance monitoring of parenteral nutrition solutions. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. 2008; 17 (1):116-122
11. Yuan JP, Chen F. Simultaneous separation and determination of sugars, ascorbic acid and furanic compounds by HPLC – dual detection. Food chemistry 64 (1999) p. 423-7
12. Fathima N, Mamatha T, et al. Drug-excipient interaction and its importance in dosage form development. Journal of Applied Pharmaceutical Science 01 (06); 2011: 66-71 Available from: [http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/125\\_pdf.pdf](http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/125_pdf.pdf)



13. The Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification system [Internet]. Available from: [http://www.whooc.no/atc\\_ddd\\_index/?code=B05CX01](http://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B05CX01)
14. Vaistų informacijos centro duomenų bazė internete: <http://www.vvkt.lt>
15. Adukauskienė D., Blauzdytė J. Hipoglikemijos priežastys, diagnostika ir gydymas. *Medicina* 2006; 42 (10): 860-7. Prieiga per internetą: [http://vddb.library.lt/obj/LT-eLABa-0001:J.04~2006~ISSN\\_1010-660X.V\\_42.N\\_10.PG\\_860-867](http://vddb.library.lt/obj/LT-eLABa-0001:J.04~2006~ISSN_1010-660X.V_42.N_10.PG_860-867)
16. Mergenthaler P., Lindauer U., Dienel G. A., Meisel A. Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends Neurosci.* 2013 Oct; 36(10): 587–597. available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3900881/#R2>
17. Briedis V., Drakšienė G., Bernatoniene J., Savickas A., Kasparavičienė G., Klimas R. *Parenteraliniai preparatai ir jų technologija*. Kaunas, 2008.
18. Dextrose. AHFS monographs [Internet] Available from: <http://www.drugs.com/monograph/dextrose.html>
19. Savickas A., Briedis V., Švambaris L., Drakšienė G., Klimas R., Ramanauskienė K., Inkėnienė A. M. *Vaistų technologija V tomas*. Kaunas, 2008.
20. Savickas A., Švambaris L., Bernatonis D., Aleknavičienė B., Briedis V., Buragienė I., Štakėnaitė S. *Vaistų technologija I tomas*. Kaunas, 1994.
21. Murti Vremuri N. Preformulation. In: Nema S., Ludwig J. D., editors. *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*. 3rd edition. Volume 1: Formulation and Packaging. 2010. p. 61-64.
22. Morgan L. W., Wieslander A., Davies M., Horiuchi T., Ohta Y., Beavis M. J., Craig K. J., Williams J. D. and Topley N. Glucose degradation products (GDP) retard remesothelialization independently of d-glucose concentration. *Kidney International* 64 (5), 2003. p. 1854–66
23. Witowski J., Jörres A., Korybalska K., Ksiazek K., Wisniewska-Elnur J., O Bender T., Passlick-Deetjen J. and Breborowicz A. Glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids: Do they harm? *Kidney International* (2003) 63, S148–S151;
24. Amšiejus A., Danilčenko H., Jarienė E., Jeznach M., Kulaitienė J. Terminio apdorėjimo įtaka medaus kokybei. *VETERINARIJA IR ZOOTECHNIKA (Vet Med Zoot)*. T. 54 (76). 2011

25. Basumallick L., Rohrer J. Determination of Hydroxymethylfurfural in honey and Biomass. Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA. [Internet] Available from: [http://www.dionex.com/en-us/webdocs/109807-AN270-IC-HMF-Honey-Biomass-AN70488\\_E.pdf](http://www.dionex.com/en-us/webdocs/109807-AN270-IC-HMF-Honey-Biomass-AN70488_E.pdf)
26. Medus. Valstybinė maisto ir veterinarijos tarnyba. [Internet] Available from: <http://vmvt.lt/lt/as/vartotojas/maisto.produktai/medus/>
27. Fernanda C. de Melo, Roberto F. de Souza, Paulo L. A. Coutinho, Michèle O. de Souza. Synthesis of 5-Hydroxymethylfurfural from Dehydration of Fructose And Glucose Using Ionic Liquids. Journal of the Brazilian Chemical Society. Vol.25 no.12 São Paulo Dec. 2014
28. Ghaderi F., Shadbad M. R. S., Hoseinzadeh M. Effect of pH and Storage Temperature on 5-(Hydroxymethyl) Furfural (5HMF) Formation in USP Syrup Preparation. Pharmaceutical Sciences, June 2015, 21, 1-5.
29. Almeida J. R. M., Bertilsson M., Gorwa-Grauslund M. F., Gorsich S., Lidén G. Metabolic effects of furaldehydes and impact on biotechnological processes. Applied Microbiology and Biotechnology. February 2009 (82) p. 625–638. Prieiga per internetą: [https://www.researchgate.net/publication/23966357\\_Metabolic\\_effects\\_of\\_furaldehydes\\_and\\_impact\\_s\\_on\\_biotechnological\\_processes\\_Appl\\_Microbiol\\_Biotechnol](https://www.researchgate.net/publication/23966357_Metabolic_effects_of_furaldehydes_and_impact_s_on_biotechnological_processes_Appl_Microbiol_Biotechnol)
30. National Toxicology Program. NTP toxicology and carcinogenesis studies of 5-(Hydroxymethyl)-2-furfural (CAS No. 67-47-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). National Toxicology Program technical report series. 2010 Jun;(554):7-13, 15-9, 21-31.
31. Zhang J., Li J., Tang Y. and Xue G. Rapid Method for the Determination of 5-Hydroxymethylfurfural and Levulinic Acid Using a Double-Wavelength UV Spectroscopy. The Scientific World Journal. Volume 2013 (2013)
32. ICH. Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A(R2). Prieiga per internetą: <http://www.ich.org/home.html>
33. ICH. Specifications: Test Procedures and Acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances Q6A. Prieiga per internetą: <http://www.ich.org/home.html>

## 7. PRIEDAI

1 priedas

### Matavimų periodiškumas 6 mėnesiams ilgalaikio stabilumo tyrimo metu

| Atliekami matavimai     | Serija     | Pradinis taškas | Po 1 mėn. | Po 2 mėn. | Po 3 mėn. | Po 4 mėn. | Po 5 mėn. | Po 6 mėn. |
|-------------------------|------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Sterilumas              | I serija   | +               |           |           |           |           |           |           |
|                         | II serija  | +               |           |           |           |           |           |           |
|                         | III serija | +               |           |           |           |           |           |           |
| Išvaizda                | I serija   | +               |           |           | +         | +         |           |           |
|                         | II serija  | +               |           |           | +         | +         |           |           |
|                         | III serija | +               |           |           | +         | +         |           |           |
| pH                      | I serija   | +               | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
|                         | II serija  | +               | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
|                         | III serija | +               | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
| Gliukozės koncentracija | I serija   | +               | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
|                         | II serija  | +               | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
|                         | III serija | +               | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
| 5-HMF kiekis            | I serija   | +               | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
|                         | II serija  | +               | +         | +         | +         | +         | +         | +         |
|                         | III serija | +               | +         | +         | +         | +         | +         | +         |

