

Е.Ю. Санникова,
аспирант кафедры фармацевтической
и токсикологической химии Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

А.А. Круглякова,
аспирант кафедры фармацевтической
и токсикологической химии Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

И.Е. Шохин,
к.фарм.н., ассистент кафедры фармацевтической
и токсикологической химии Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

Г.В. Раменская,
д.фарм.н., профессор, заведующая кафедрой
фармацевтической и токсикологической химии,
директор НИИ фармации Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

E.Yu. Sannikova,
post-graduate student of the chair of pharmaceutical
and toxicological chemistry of the First MSMU
named after I.M. Sechenov

A.A. Kruglyakova,
post-graduate student of the chair of pharmaceutical
and toxicological chemistry of the First MSMU
named after I.M. Sechenov

I.E. Shokhin,
PhD, assistant of the chair of pharmaceutical
and toxicological chemistry of the First MSMU
named after I.M. Sechenov

G.V. Ramenskaya,
Doctor of pharmacy, prof., head of the chair
of pharmaceutical and toxicological chemistry,
director of the Research institute of pharmacy
of the First MSMU named after I.M. Sechenov

ИССЛЕДОВАНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИНДАПАМИДА В БИОРЕЛЕВАНТНЫХ СРЕДАХ

THE INVESTIGATION OF KINETICS DISSOLUTION OF PROLONGED INDAPAMIDE DRUGS IN BIORELEVANT MEDIA

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Галина Владиславовна Раменская, заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии,
директор НИИ фармации

Адрес: 119019, г. Москва, ул. Никитский бульвар, д. 13

Телефон: 8 (495) 691–13–92

E-mail: ramenskaia@mail.ru

Статья поступила в редакцию: 05.03.2013

Статья принята к печати: 12.03.2013

Аннотация. Была разработана методика определения малорастворимого лекарственного средства (индапамида) в биореlevantных средах. Методика была валидирована по следующим валидационным характеристикам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность, аналитический диапазон. Разработанная методика была применена для исследования сравнительной кинетики растворения пролонгированных лекарственных средств индапамида различных производителей.

Annotaton. In the current work there was performed the development of the method of determination dissolution kinetics in biorelevant media of slightly soluble substance, for example indapamide. The method was validated in terms of specificity, linearity, precision, accuracy, analytical range. The method was applied to dissolution kinetic studies of extended-release indapamide preparations.

Ключевые слова. Индапамид; биофармацевтическая классификационная система; кинетика растворения, биореlevantные среды.

Key words. Indapamide; biopharmaceutical classification system; equilibrium biopharmaceutical solubility, dissolution kinetics, biorelevant media.

ВВЕДЕНИЕ

Стратегией развития фармацевтической промышленности на период до 2020 г. предусмотрено увеличение доли продукции отечественного производства в общем объеме потребления на внутреннем рынке до 50 % в стоимостном выражении, в том числе благодаря замещению импорта лекарственных средств дженериками. На стадии разработки лекарственного средства важной задачей является достоверно смоделировать его физиологический транзит в желудочно-кишечном тракте. Основными подходами, позволяющими наиболее точно отразить поведение ЛС в ЖКТ, являются: испытание в трех средах растворения со значениями pH 1,2; 4,5; 6,8 (что соответствует средам желудка, двенадцатиперстной кишки и начального отдела тонкого кишечника); последовательный перенос лекарственной формы из одной среды в другую, применение биорелевантных сред растворения, а также специальных аппаратов (например, «искусственная пищеварительная система», TNO, Нидерланды) [1, 2]. Эти подходы могут позволить отразить поведение ЛС в физиологических условиях. Состав биорелевантных сред приведен в Таблица 1.

Таблица 1.

Состав биорелевантных сред

Компоненты	FaSSIF	FeSSIF
Натрия таурохолат	3 мМ	15мМ
Лецитин	0,75 мМ	3,75 мМ
КН ₂ РO ₄	3,9 г	8,65 г
KCl	7,7 г	15,2 г
NaOH	до pH 6,5	до pH 5,0
Натрия лаурилсульфат	-	-
HCl	-	-
NaCl	-	-
Вода деминерализованная	до 1 л	до 1 л
Свойства		
pH	6,5	5,0
осмоляльность	270±10 мОсмоль	635±10 мОсмоль

Целью данного исследования являлась разработка и валидация методики определения кинетики растворения малорастворимого лекарственного средства в биорелевантных средах. Объектами исследования являлись препараты индапамида, которые входят в перечень Жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов [3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведение исследования сравнительной кинетики растворения

Исследуемое лекарственное средство:

«Арифон®ретард» таблетки с контролируемым высвобождением, покрытые пленочной оболочкой 1,5 мг фирмы «Лаборатории Сервье», Франция, произведено: ООО «Сердикс», Россия».

Референтное лекарственное средство:

«Равел СР» таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой 1,5 мг производства ООО «КРКА-РУС», Россия.

Стандартный образец — индапамид (количественное содержание 99,8 %). Исследование проводилось на приборе для проведения теста «Растворение» Sotax, AT7 Smart, Швейцария.

Оценку результатов сравнительной кинетики растворения проводили в соответствии с требованиями Методических Указаний Минздравсоцразвития России «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств», приложение 4, 2008 г.

Тест «Растворение» проводили согласно ОФС 42–0003–04 «Растворение» на аппарате «лопастная мешалка» при скорости вращения 50 об/мин и температуре 37 ± 0,5. Исследование проводили в биорелевантной среде FaSSIF, моделирующей состав кишечного сока после еды. Среду готовили из коммерчески приобретенного порошка SIF Powder (ePhares, Швейцария) согласно протоколу, приложенному к порошку. Объем среды растворения в сосуде — 500 мл. Временные точки отбора проб: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24 часа.

Приготовление среды для растворения

а) Приготовление фосфатного буфера pH 6,5 (5 литров) 2,10 г натрия гидроксида, 19,77 г натрия дигидрофосфата гидрата (или 17,19 г безводного натрия дигидрофосфата), 30,93 г натрия хлорида вносили в мерный стакан вместимостью 5000 мл, прибавляли около 4900 мл воды очищенной, перемешивали с использованием магнитной мешалки до полного растворения, доводили водой до метки и перемешивали. Измеряли pH раствора на pH-метре, в случае необходимости доводили значение до 6,5 раствором 0,1 М HCl или 0,1 М NaOH.

б) Приготовление FaSSIF, с использованием порошка SIF Powder (1 литр) 2,24 г порошка SIF Powder помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляли 500 мл фосфатного буфера pH 6,5. Перемешивали с использованием магнитной мешалки при комнатной температуре до тех пор, пока порошок SIF Powder равномерно не распределялся по всему объему раствора. Затем доводили объем раствора до метки фосфатным буфером и перемешивали. Выдерживали среду растворения в течение 2 часов при комнатной температуре до появления характерной опалесценции [4, 5].

Методика проведения теста «Растворение»

В каждый из 6 сосудов для растворения помещали 500 мл среды растворения — FaSSIF. По 1 таблетке лекарственного средства Арифон® ретард в первые 3 сосуда, и по 1 таблетке Равел СР в оставшиеся сосуда. Через 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 24 часа проводили отбор 5 мл среды для анализа (испытуемый раствор). Объем в сосуде незамедлительно восполняли таким же объемом среды растворения. Отобранные пробы фильтровали через фильтры типа «CHROMAFIL®» с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата [6–8].

Количественное определение проводили методом ВЭЖХ.

Хроматографические условия:

Колонка: 150 x 4,6 мм WatersAtlantis® T3 5 мкм

Предколонка: 20 x 4,6 мм WatersAtlantis® T3 5 мкм

Температура колонки: $25 \pm 2^\circ\text{C}$

Температура образца: $20 \pm 2^\circ\text{C}$

Объем пробы: 20 мкл

Скорость потока: 1,0 мл/мин

Подвижная фаза: буфер pH 2,5 :ацетонитрил, 55 : 45

Детектор: УФ, 242 нм

Время хроматографирования: 8 мин.

Время удерживания индапамида: около 6 мин.

Пригодность хроматографической системы:

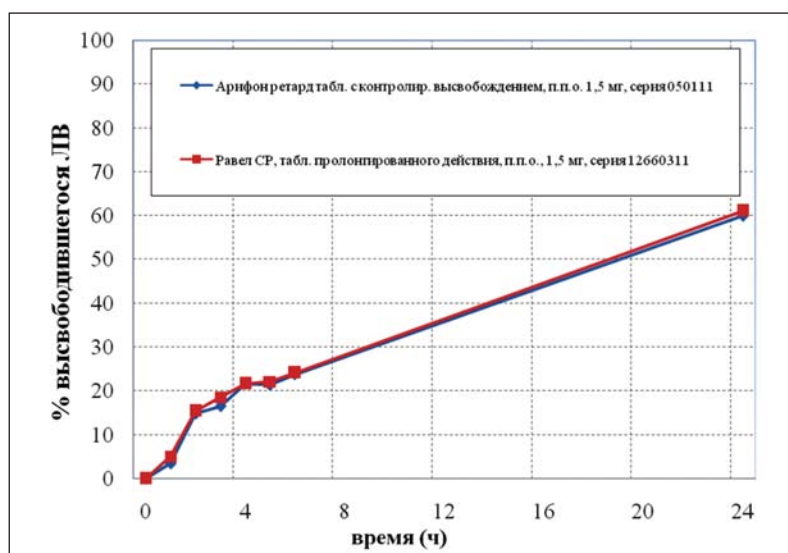
Стандартный раствор в каждой из сред хроматографировали 6 раз. Система считалась пригодной, если относительное стандартное отклонение площадей пиков, полученных последовательными введениями, не превышало 1,5 %.

Фактор асимметрии пика индапамида — не более 2,0.

Эффективность хроматографической колонки — не менее 3000.

Интерпретация результатов.

Профили растворения лекарственных средств Арифон® ретард и Равел СР приведены на рис. 1.



Согласно требованиям Методических Указаний Минздравсоцразвития России «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств», приложение 4, 2008 г. эквивалентность профилей растворения необходимо оценивать путем расчета фактора сходимости (f_2), который рассчитывали по формуле:

$$f_2 = 50 \times \log_{10} \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{l=1}^{l=n} (R_l - T_l)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\}$$

где:

n — число временных интервалов отбора проб;

R и T — процентное содержание определяемого вещества (среднее значение), высвободившегося в среду растворения в каждый момент времени (t) из препарата сравнения (R) и испытуемого препарата (T).

Согласно требованиям Методических Указаний Минздравсоцразвития России «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств», приложение 4, 2008 г., профили растворения считаются эквивалентными, если фактор сходимости f_2 принимает значения от 50 до 100. Рассчитанная величина фактора сходимости f_2 для профилей растворения препаратов Арифон® ретард и Равел СР составила 92,48, что свидетельствует об эквивалентности профилей.

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ

Специфичность

Специфичность методики подтверждается путем доказательства того, что компоненты среды растворения или плацебо не влияют на определение действующего вещества при проведении теста «Растворение» при полном высвобождении.

На хроматограмме холостого раствора среды отсутствовали пики раствора индапамида.

Линейность

Для определения линейности методики проводили анализ 6 стандартных растворов индапамида в биорелевантной среде с концентрациями: 0,00006

Рис. 1. Усредненные профили высвобождения индапамида из препаратов Арифон® ретард и Равел СР

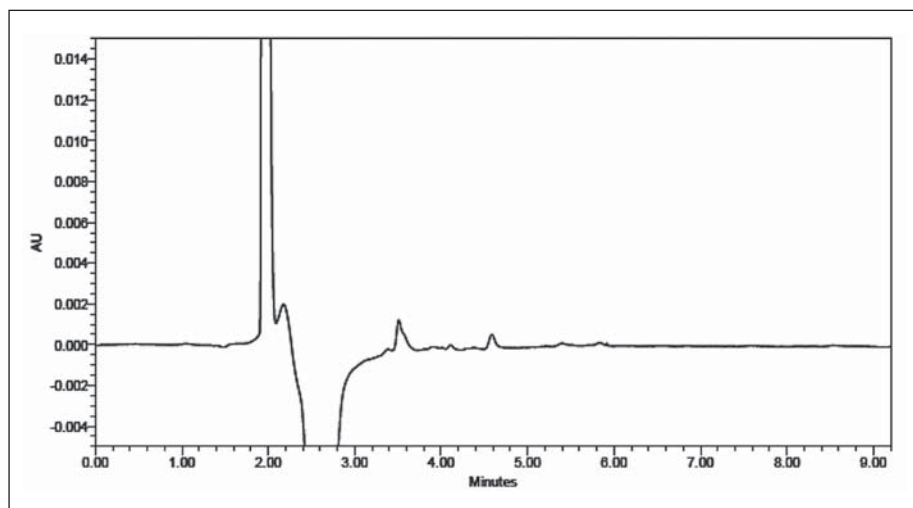


Рис. 2. Хроматограмма среды FaSSIF

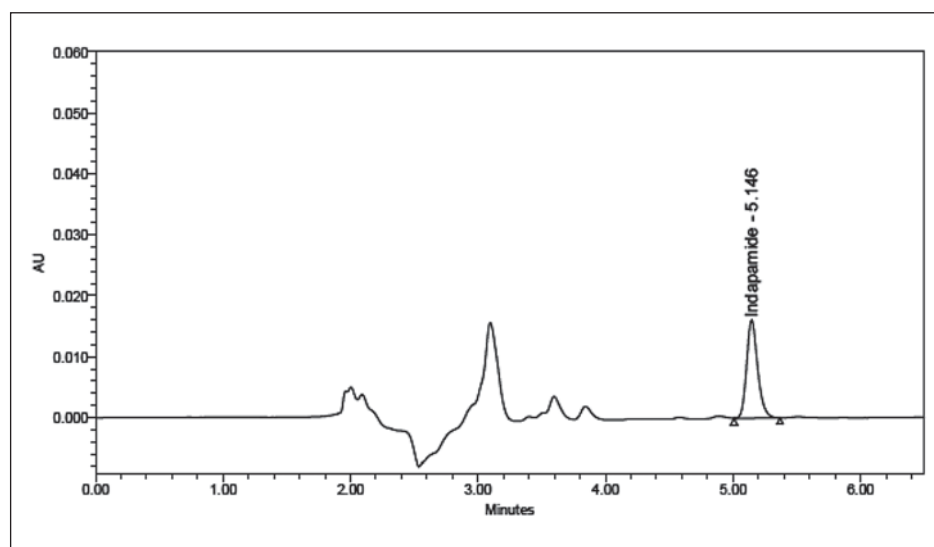


Рис. 3. Хроматограмма раствора индапамида (0,0015 мг/мл) в FaSSIF

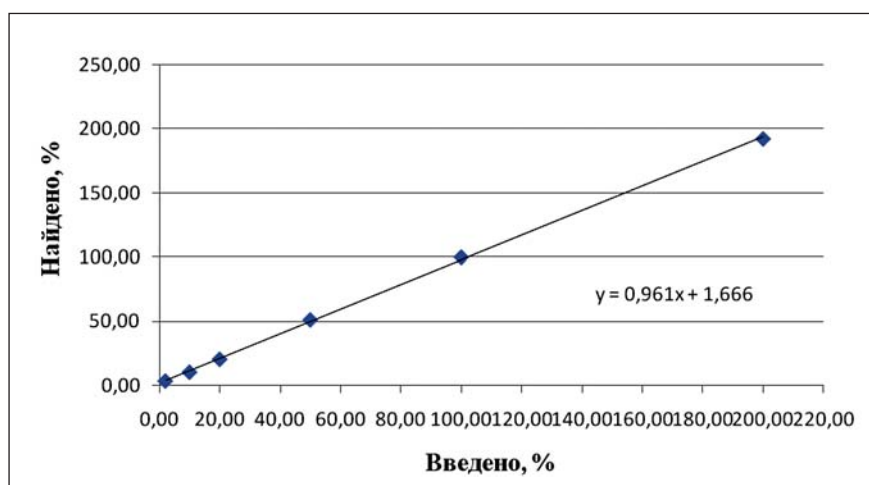


Рис. 4. Прямая линейной зависимости в нормализованных координатах растворов индапамида для оценки валидационных характеристик

мг/мл, 0,0003 мг/мл, 0,0006 мг/мл, 0,0015 мг/мл, 0,003 мг/мл, 0,006 мг/мл.

Коэффициент корреляции составил 0,9998.

Согласно требованиям Методических Рекомендаций «Руководство по валидации методик

анализа лекарственных средств» (М., 2007), критические значения для коэффициента корреляции $r > 0,99$.

Прямая линейной зависимости в нормализованных координатах (введено / найдено) растворов

индапамида для оценки валидационных характеристик представлена на рис. 4.

Уравнение линейной зависимости: $y=0,9613x + 1,6667$

Правильность

Хроматографировали стандартный раствор индапамида в концентрации 0,003 мг/мл 5 раз и рассчитывали относительную погрешность на 3-х уровнях концентраций.

Результаты расчета относительной погрешности представлены в Таблица 2.

Таблица 2.

Результаты расчета относительной погрешности

Концентрация, мг/мл	0,0003	0,0015	0,006
Погрешность, %	0,99	2,22	-3,69

Прецизионность

Хроматографировали стандартный раствор индапамида концентрации 0,003 мг/мл 5 раз и рассчитывали относительное стандартное отклонение. Величина относительного стандартного отклонения составила 0,17%.

Аналитический диапазон

На основании валидационных исследований установили, что аналитический диапазон составил от 0,00006 мг/мл до 0,006 мг/мл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Была разработана методика определения мало-растворимого лекарственного средства (индапамида) в биореlevantных средах. Методика была валидирована по следующим валидационным характеристикам: специфичность, линейность, пра-

вильность, прецизионность, аналитический диапазон. Разработанная методика была применена для исследования сравнительной кинетики растворения лекарственных средств индапамида различных производителей.

Список литературы

1. Löbenberg R., Krämer J., Shah V.P., Amidon G.L., Dressman J. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: dissolution behavior of glibenclamide // Pharmaceutical Research. — 2000. — Vol. 17. — № 4. — P. 439–444.
2. Kostewicz E., Brauns U., Becker R., Dressman J. Forecasting the oral absorption behavior of poorly soluble weak bases using solubility and dissolution studies in biorelevant media // Pharmaceutical Research. — 2002. — Vol. 19. — № 3. — P. 345–349.
3. Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП). Утвержден распоряжением Правительства РФ от 7 декабря 2011 г. № 2199-р. — М., 2011.
4. Wei H., Lobenberg R. Biorelevant dissolution media as a predictive tool for glyburide a class II drug // Eur. J. Pharm. Sc. — 2006. — Vol. 29(1). — P. 45–52.
5. Zoeller T., Klein S. Simplified biorelevant media for screening dissolution performance of poorly soluble drugs // Dissolution Technologies. — 2007. — Vol. 14(4). — P. 8–14.
6. Löbenberg R., Shah V., Krämer J., Amidon G.L., Dressman J.B. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: dissolution behavior of glibenclamide // Pharm. Res. — 2000. — Vol. 17(4). — P. 439–444.
7. Guidance for Industry: waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. — Rockville, 2000.
8. Jogia H., Mehta T., Patel M. Evaluation of dissolution media containing a novel synthetic surfactant by in vitro testing of BCS class II drugs // Dissolution Technologies. — 2009. Vol. 16(3).