

АНАЛИЗ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СРЕДЫ РАСТВОРЕНИЯ НА ВЫСВОБОЖДЕНИЕ РОПИНИРОЛА ИЗ ТВЕРДЫХ ДОЗИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ

Аналитические решения
Markets and Applications Programs

Авторы

Раменская Г.В., Ярушок Т.А.,
Шохин И.Е., Медведев Ю.В.

ГБОУ ВПО Первый
Московский Государственный
Медицинский Университет
имени И.М.Сеченова
Минздрава России



Проведен тест сравнительной кинетики растворения для препаратов ропинирола в двух средах со значением pH 4,0: фосфатный буферный раствор (200 об/мин) и цитратный буферный раствор (100 об/мин). По результатам исследования было сделано заключение о влиянии компонентов среды растворения на профиль высвобождения и стабильность действующего вещества даже при одинаковом значении pH. Оптимальной средой растворения был признан цитратный буферный раствор, в котором достигается наилучшее высвобождение активного ингредиента, а также действующее вещество сохраняет свою структуру.

Введение

Тест «Растворение» представляет собой испытание, используемое для оценки высвобождения активного фармацевтического ингредиента (АФИ) из твердых дозированных лекарственных форм (ЛФ) в основном для перорального применения – таблеток и капсул. Для проявления фармакологического эффекта лекарственному веществу необходимо в достаточной степени растворяться в жидкостях желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Тест «Растворение» играет важнейшую роль в контроле качества ЛФ [1]. При разработке лекарственного препарата (ЛП) необходимо тщательно исследовать свойства фармацевтической субстанции, состав вспомогательных веществ ЛФ, критические параметры производства, провести испытание, моделирующие реальные условия поведения ЛФ в ЖКТ для определения возможных механизмов изменения процессов растворения и т.п. [2].

Методика теста «Растворение» должна быть способной выявлять изменения в ЛФ или в процессе производства, а также те, которые могут влиять на эффективность и безопасность ЛС (то есть быть достаточно дискриминирующей) [3].



На кинетику растворения могут влиять свойства фармацевтической субстанции и вспомогательных веществ, а также особенности технологического процесса, поэтому одним из важнейших критических аспектов при разработке методики теста «Растворение» является выбор среды растворения [4].

В качестве сред растворения согласно ОФС «Растворение» применяются вода очищенная, а также буферные растворы с различными значениями рН, соответствующими физиологическим средам организма: желудочный сок (0,1 М раствор кислоты хлористоводородной), сок двенадцатиперстной кишки и тонкого кишечника (буферные растворы с диапазоном рН 4,0 – 8,0) [5]. Если высвобождение лекарственного вещества из таблетки или капсулы должно происходить в желудке, то данный препарат будет хорошо растворяться в буферном растворе с низким значением рН, например, в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной [6, 7]. Поскольку ЛВ, входящие в состав препарата, имеют разные физико-химические свойства, для каждого ЛС выбирают среду для растворения с учетом его химической структуры и состава вспомогательных веществ.

Использование воды в качестве среды растворения в общем случае не рекомендуется, так как у воды отсутствует буферная емкость, а рН, поверхностное натяжение, электропроводность, содержание CO_2 зависят от источника воды и могут изменяться в процессе исследования под влиянием свойств самой ФС, абсорбции и реабсорбции диоксида углерода воздуха [8]. В тоже время, во многих монографиях USP вода до сих пор используется в качестве среды растворения (например, Акарбоза, Ацетаминофен/ Бутабарбитал/ Кофеин/ Кодеина фосфат, Амоксициллин/ Клавуланат калия, Аспирин/ Мепробамат, Бисульфат, Капецитабин, Карбамазепин, Цефадроксил, Цефалексин, Цетиризина гидрохлорид, Клоназепам, Циклофосфамид, Дексаметилфенидат гидрохлорид, Десмопрессин-Ацетат, Диданозин, Эстазолам, Фенофибрат) [1].

Слабые основания лучше растворяются в средах с кислым значением рН, однако их растворимость понижается у пожилых пациентов и при приеме антацидных ЛП. Напротив, слабые кислоты растворяются в нижних отделах ЖКТ. Поэтому они показывают профили замедленного высвобождения, даже если ЛФ растворяется быстро в щелочной среде [9].

Для малоионизируемых и липофильных соединений рекомендуется буферный раствор с добавлением ПАВ. Оптимальным считается комбинация: ПАВ + кислота, либо буферный раствор или желчные кислоты в виде смесей [10].

В частных случаях возможно использование ферментов, солей, ПАВ, смешанных водно-органических растворителей (например, 30 % пропанола). [10].

Целью данного исследования являлось сравнение влияния условий теста «Растворение», а именно состава среды растворения и числа оборотов мешалки на примере растворения ропинирола в лекарственных формах пролонгированного действия.

Экспериментальная часть

Образцы

Таблетки ропинирола пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой 4 мг различных производителей. Вспомогательные вещества: метилметакрилата, триметиламмониетилметакрилата хлорида и этилакрилата сополимер, гипромеллоза, натрия лаурилсульфат, коповидон, магния стеарат.

Препарат сравнения – Реквип Модутаб таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой 4 мг производства СмитКляйн Бичем ПиЭлСи, Великобритания. Вспомогательные вещества: гипромеллоза 2208, масло касторовое гидрированное, кармеллоза натрия, повидон К29-32, мальтодекстрин, магния стеарат, лактозы моногидрат, кремния диоксид коллоидный, маннитол, железа (III) оксид желтый (E172), глицерил дибегенат.

Ропинирола гидрохлорид представляет собой лекарственное средство для перорального применения,

агонист дофаминовых рецепторов. По химической структуре является солью – 4-[2-(дипропиламино)этил]-1,3-дигидро-2Н-индол-2-он моногидрохлорид. Структурная формула представлена на рисунке 1.

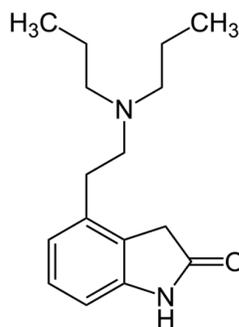


Рисунок 1. Структурная формула ропинирола.

Ропинирола гидрохлорид — твердое вещество от белого до желтого цвета с точкой плавления в диапазоне от 243 до 250 °С и растворимостью в воде 133 мг/мл [11].

Изучение сравнительной кинетики растворения

Оборудование

Описание	Номер по каталогу
Agilent 708-DS Dissolution Apparatus	K1000-02250

Температура	37 ± 0,5 °С
Скорость вращения мешалки	200 об/мин (фосфатный буферный раствор рН 4,0) и 100 об/мин (цитратный буферный раствор рН 4,0)
Объем среды растворения	500 мл

Условия проведения теста «Растворение»

При выборе условий теста сравнительной кинетики растворения (ТСКР) исходили из требований Методических указаний МЗСР «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» (2008) (приложение 4) [12], Методических рекомендаций для разработчиков и производителей лекарственных средств по оценке эквивалентности *in vitro* генерических лекарственных средств согласно процедуре «биовериф» (2010) [13] и рекомендаций FDA.

Среды

Первая среда растворения – фосфатный буферный раствор рН 4,0, вторая среда растворения – цитратный буферный раствор рН 4,0 (рекомендуется FDA для проведения теста «Растворение» пролонгированных препаратов ропинирола).

Пробоподготовка

Фосфатный буферный раствор готовили растворением 6,26 г натрия дигидрофосфата дигидрата и 2,18 г динатрия гидрофосфата в 1 литре воды очищенной и доведением pH с помощью фосфорной кислоты до 4,0. Цитратный буферный раствор готовили растворением 10 г лимонной кислоты, 4,4 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, 4,0 г натрия гидроксида в 1 литре воды очищенной. pH растворов измеряли с помощью портативного pH/мВ-метра pH 330i. Далее проводили деаэрацию среды растворения следующим способом: нагревали среду растворения приблизительно до 41 °С при осторожном перемешивании на магнитной мешалке, фильтровали среду под вакуумом с использованием фильтра с размером пор 0,45 мкм.

Проведение теста «Растворение»

В каждый сосуд для растворения помещали по 1 таблетке исследуемого лекарственного средства ропинирола. Последовательный отбор проб проводили через 1, 2, 4, 8, 24 часа по 5 мл с помощью дозатора переменного объема «Ленпипет Блэк» ДПОП-1-500-5000, объем среды растворения не восполняли. Полученные пробы охлаждали при комнатной температуре в течение 20 - 30 мин, затем фильтровали через мембранные фильтры «Agilent Captiva Premium Syringe Filter®» с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. 2 мл полученного раствора помещали в центрифужные пробирки вместимостью 10 мл и прибавляли 2 мл среды растворения, встряхивали в течение 30 секунд на вортекс-шейкере. Аналогичным образом проводили исследование референтного лекарственного средства ропинирола. Для получения статистически достоверных результатов исследование проводили 6 раз для каждого препарата.

Количественное определение

Количественное определение высвободившегося ропинирола проводили методом ВЭЖХ

Оборудование

Описание	Номер по каталогу
Agilent 1260 Series	G1311B

Условия хроматографирования

Хроматографическая колонка	Agilent Poroshell 12050 x 4,6 мм E C-C18 2,7 мкм
Температура колонки	25 ± 2 °С
Объем пробы	40 мкл
Скорость потока	0,8 мл/мин
Подвижная фаза	буферный раствор pH 7,0 : ацетонитрил, 83 : 17
Детектор	УФ, 250 нм с записью спектра поглощения в диапазоне 210-400 нм
Время хроматографирования	7 мин.
Время удерживания пика ропинирола	около 5 мин.

Проведение расчетов

Расчет содержания ропинирола в среде растворения проводили методом внешнего стандарта.

Содержание ропинирола в одной таблетке в процентах (X%) рассчитывали по формуле:

$$X\% = \frac{S \cdot a_0 \cdot 500 \cdot 0,8769 \cdot P \cdot 4,0 \cdot 10,0}{S_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot L \cdot 5,0} = \frac{S \cdot a_0 \cdot 0,8769 \cdot P \cdot 2}{S_0 \cdot 5 \cdot L}$$

- S - площадь пика ропинирола на хроматограмме испытуемого раствора;
- S_0 - площадь пика ропинирола на хроматограмме стандартного раствора;
- a_0 - навеска стандартного образца ропинирола гидрохлорида, мг;
- P - содержание основного вещества в стандартном образце, %;
- L - заявленное содержание ропинирола в одной таблетке, мг;
- $0,8769$ - коэффициент пересчета ропинирола гидрохлорида на ропинирил.

Пробоподготовка

Приготовление стандартного раствора: навеску приблизительно 11,4 мг ропинирола гидрохлорида (производитель Hangzhou Royall Import & Export Co., Ltd., CAS № 91374-20-8, количественное содержание 99,0 %) (эквивалентную 10,0 мг ропинирола) рабочего стандарта растворяли в среде растворения в мерной колбе вместимостью 100,0 мл. Раствор обрабатывали ультразвуком в течение 20 минут. Объем, эквивалентный 4,0 мл вышеупомянутого раствора, доводили до метки в мерной колбе вместимостью 100,0 мл с помощью среды растворения. Конечная концентрация составила 0,004 мг/мл.

Программное обеспечение

MS Excel

Agilent ChemStation ver.B.04.03

Статистическая обработка

Статистическую обработку проводили с помощью программы MS Excel. Эквивалентность профилей растворения лекарственных средств ропинирола оценивали, исходя из фактора сходимости f_2 ,

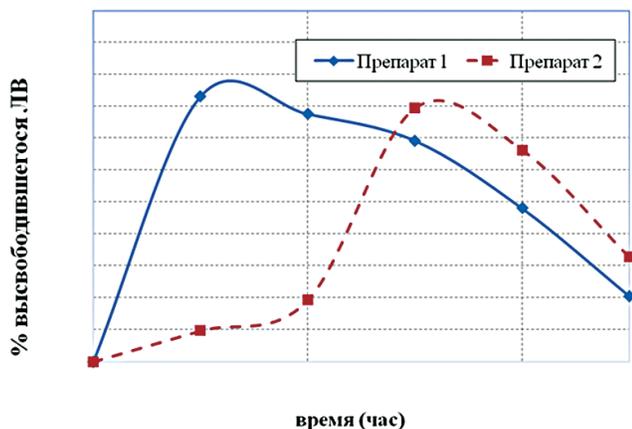


Рисунок 2. Усредненные профили растворения лекарственных средств с ропиниролом (фосфатный буферный раствор pH 4,0).

величина которого составила 16,91 в среде фосфатного буферного раствора pH 4,0 и 52,11 в среде цитратного буферного раствора pH 4,0 (норма 50,0 – 100,0). Для каждой временной точки производился расчет стандартных отклонений (RSD, %).

Результаты исследования считались достоверными, в соответствии с требованиями Методических Указаний Минздравсоцразвития России «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств», приложение 4, 2008 г. величина относительного стандартного отклонения (RSD, %) не должна превышать 10 % для всех временных точек за исключением первой.

Результаты и обсуждение

Профили растворения лекарственных средств приведены на Рисунках 2 – 3. Хроматограммы и спектры поглощения испытуемых растворов ропинирола представлены на Рисунках 4 – 6. Исследуемое лекарственное средство ропинирола – Препарат 1; референтное лекарственное средство ропинирола – Препарат 2.

Из рисунков видно, что при проведении теста сравнительной кинетики растворения препаратов ропинирола в фосфатном буферном растворе pH 4,0

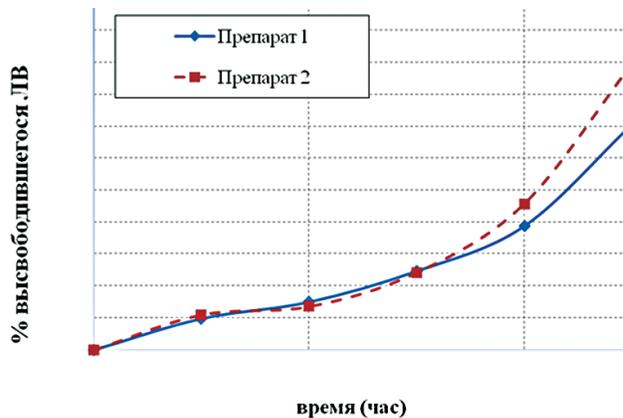


Рисунок 3. Усредненные профили растворения лекарственных средств с ропиниролом (цитратный буферный раствор pH 4,0).

профиль растворения имеет вид нисходящей кривой с максимумом на первых часах проведения испытания (1 час – для исследуемого препарата, 4 часа – для референтного препарата). Максимальная концентрация действующего вещества на первых часах испытания может быть связана

с достаточно большим числом оборотов мешалки (200 об/мин). Кроме того, на хроматограмме испытуемого раствора обнаруживаются два пика, имеющие различные спектры поглощения, представленные на рисунке 4.

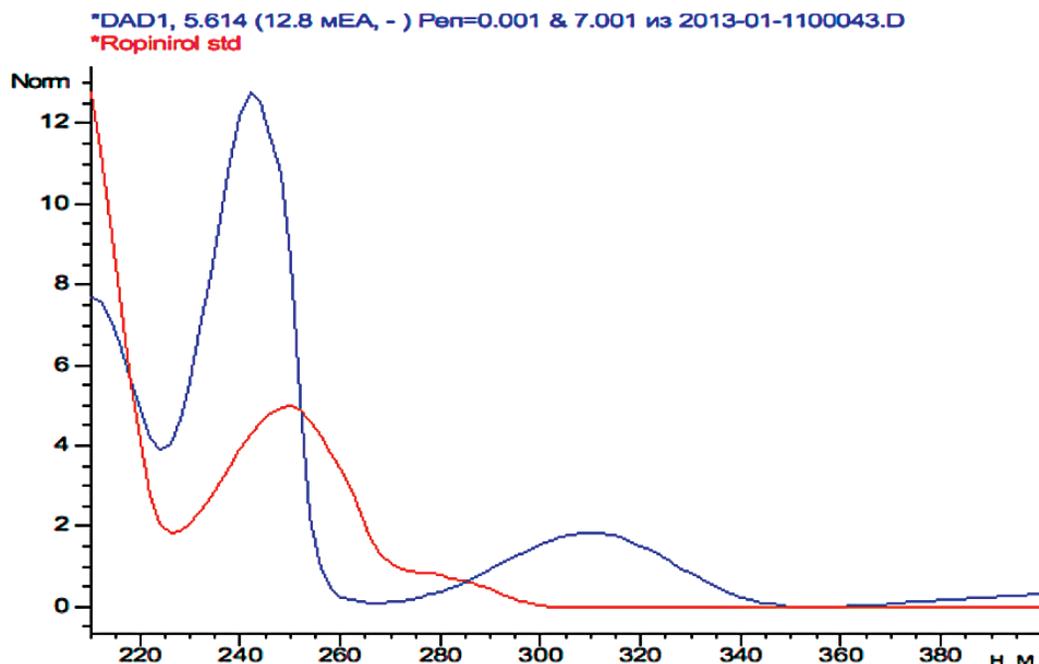


Рисунок 4. Спектр поглощения стандарта ропинирола (максимум поглощения около 250 нм) и неидентифицированной примеси таблеток ропинирола (временная точка 24 ч, фосфатный буферный раствор pH 4,0, максимумы поглощения 240 нм и 310 нм).

Спектр поглощения ропинирола имеет максимум поглощения при длине волны 249 нм. Второй спектр неизвестного вещества, имеющий 2 выраженных максимума (242 и 310 нм), принадлежит по всей видимости продукту разложения таблеток ропинирола, что может

быть связано с отсутствием в среде растворения лимонной кислоты, обладающей антиоксидантными свойствами. Его наличие подтверждается обнаружением второго пика на хроматограмме испытуемого раствора (рисунок 5),

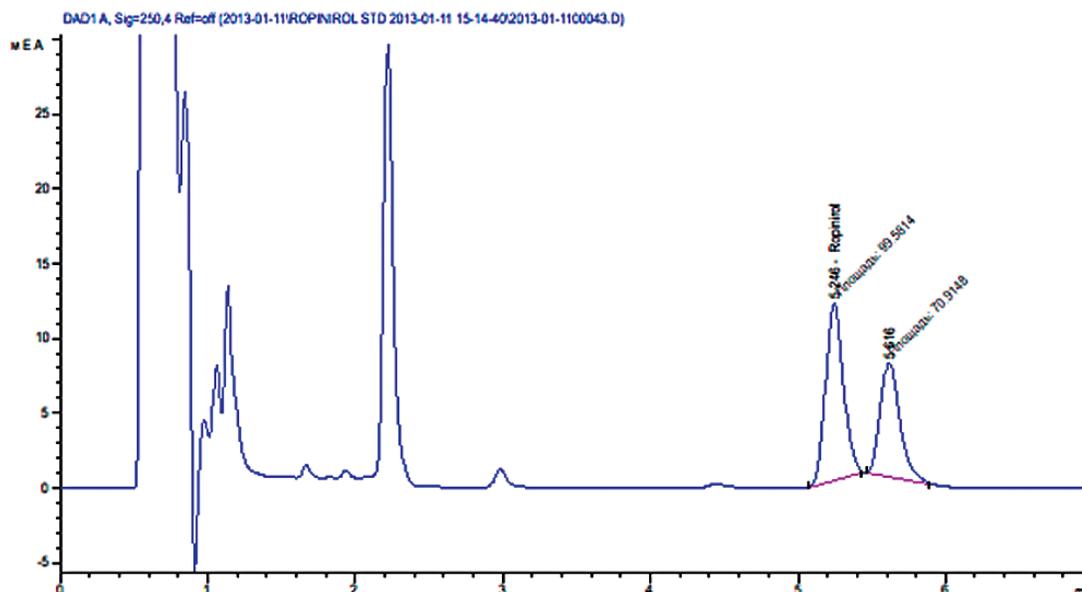


Рисунок 5. Хроматограмма испытуемого раствора ропинирола Препарата 1 (временная точка 24 ч, фосфатный буферный раствор pH 4,0).

который отсутствует на первых часах проведения испытания в фосфатном буферном растворе pH 4,0 (рисунок 6).

При проведении теста сравнительной кинетики растворения препаратов ропинирола в цитратном буферном растворе pH 4,0 наблюдается профиль высвобождения,

характеризующийся постепенным высвобождением и, соответственно, увеличением концентрации действующего вещества из таблеток пролонгированного действия, на хроматограмме присутствует пик ропинирола и отсутствует пик неидентифицированной примеси (рисунок 7).

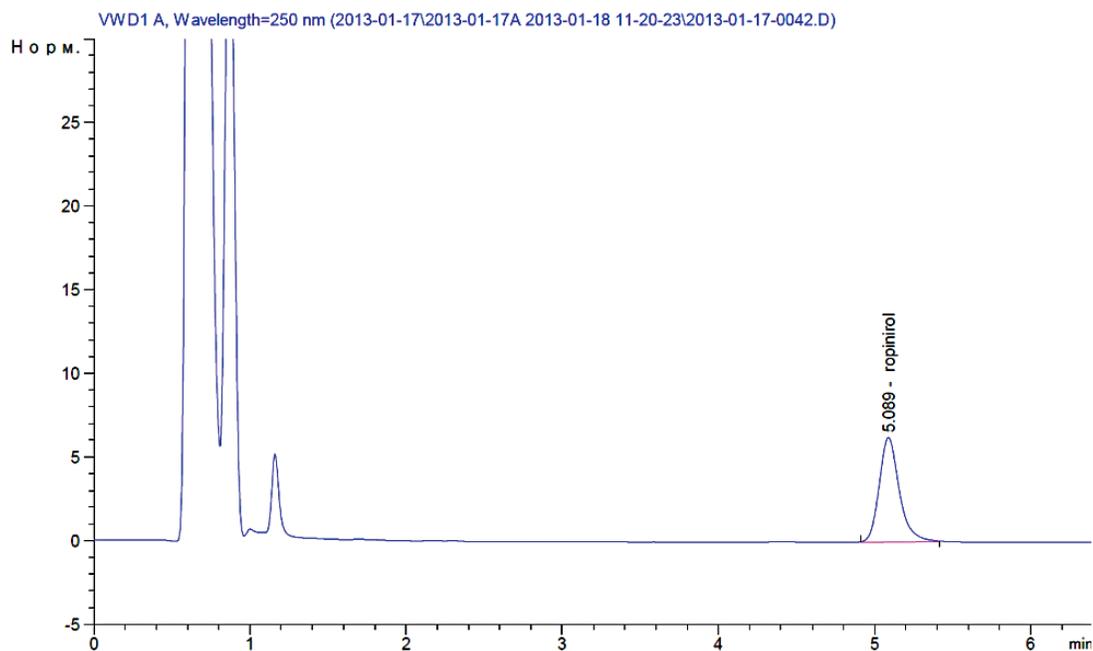


Рисунок 6. Хроматограмма испытуемого раствора ропинирола Препарата 1 (временная точка 1 ч, фосфатный буферный раствор pH 4,0).

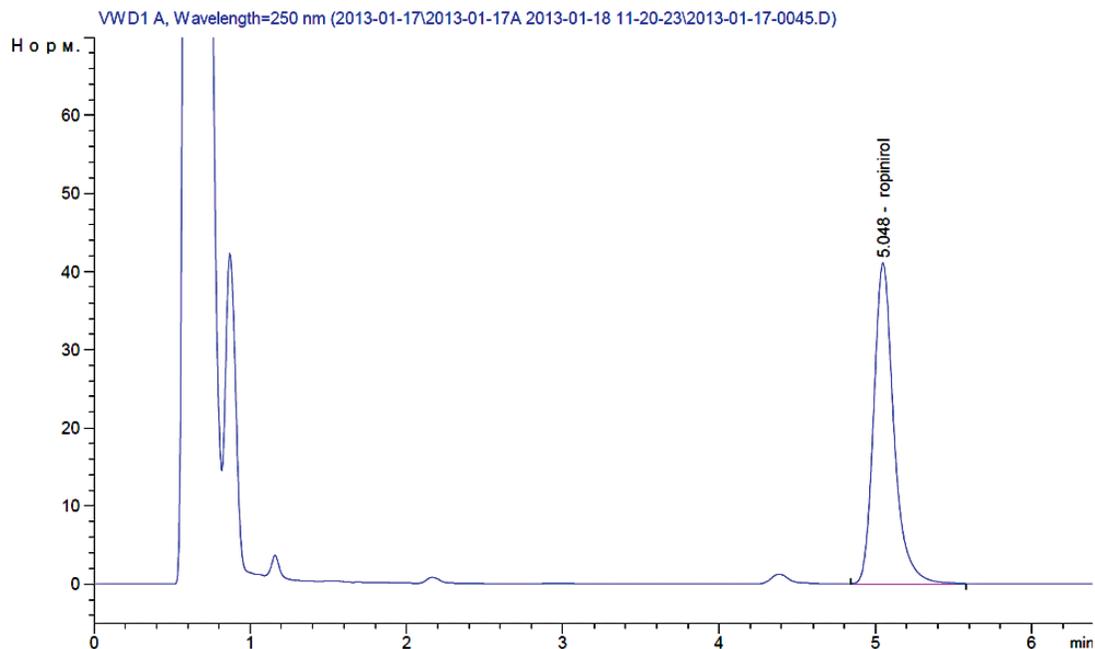


Рисунок 7. Хроматограмма испытуемого раствора ропинирола Препарата 2 (временная точка 24 ч, цитратный буферный раствор pH 4,0).

Выводы

Проведен тест сравнительной кинетики растворения пролонгированных препаратов ропинирола в двух средах – фосфатном буферном растворе pH 4,0 (200 об/мин) и цитратном буферном растворе (100 об/мин). Расчет величины фактора сходимости f_2 , которая составила 52,11 (норма от 50,0 до 100,0), позволил сделать вывод о том, что кинетики растворения лекарственных средств ропинирола эквивалентны в цитратном буферном растворе.

В фосфатном буферном растворе величина фактора сходимости составила 16,91, что свидетельствует о неэквивалентности лекарственных средств ропинирола в данной среде растворения. Очевидно, что данная неэквивалентность связано с тем, что фосфатный буфер 4,0 не является оптимальной средой для ТСКР препаратов ропинирола и приводит к его деградации. Рекомендованной средой растворения для исследования кинетики растворения ропинирола был признан цитратный буфер pH 4,0.

Список литературы

1. K. Gowthamarajan and Sachin Kumar Singh. Dissolution testing for poorly soluble drugs: a continuing perspective. *Dissolution Technologies*. August 2010. Volume 17. Issue 3. p. 24 – 32.
2. Dickinson, P.A. Clinical Relevance of Dissolution Testing in Quality by Design / P.A. Dickinson, W.W. Lee, P.W. Stott, A.I. Townsend et al. // *AAPS J.* – 2008. – June. – 10(2). – P. 380–390.
3. Qureshi, S.A. Developing Discriminatory Drug Dissolution Tests and Profiles: Some Thoughts for Consideration on the Concept and Its Interpretation / S.A. Qureshi // *Dissolution Technologies*. – 2006. – November. – P. 18-23.
4. D'Souza, S.S. AAPS Workshop on the Role of Dissolution in QbD and Drug Product Life Cycle: A Commentary / S.S. D'Souza, R. Lozano, S. Mayock, V. Gray // *Dissolution Technologies*. – 2010. – November. – P. 41-45.
5. Государственный стандарт качества лекарственных средств. Общая фармакопейная статья 42-0003-04 «Растворение» (2004).
6. Давыдова, К.С. Тест «Растворение» в контроле качества лекарственных средств / К.С. Давыдова, Ю.И. Кулинич, И.Е. Шохин // *Ремедиум*. – 2010. – № 5. – С. 42.
7. Волкова, Е.А. Биорелевантные среды растворения – современный инструмент для моделирования процессов растворения и всасывания ЛС / Е.А. Волкова, И.Е. Шохин, Г.В. Раменская и др. // *Биомедицина*. – 2011. – № 3. – С. 133-140.
8. FIP Guidelines for Dissolution Testing of Solid Oral Products. Join Report of the Section for Official Laboratories and Medicines Control Services and the Section of Industrial Pharmacists of the FIP // *Pharm. Ind.* – 1995. – Vol. 57, N5. – P. 362-369.
9. Brickl, R. Dissolution testing of solid products / R. Brickl // *Am. Pharm. Rev.* – 2010. – N1. – P. 98-102.
10. Растворение для твердых дозированных лекарственных препаратов / ОФС-42-0135-09 // *ГФ XII*. – 2010. – ч.2.
11. База данных FDA: Ropinirole Official FDA <http://www.drugs.com/pro/ropinirole.html>. Проверено 30.05.2013.
12. Методические указания «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств». М., МЗСР РФ, 2008.- 32 с.
13. Методические рекомендации для разработчиков и производителей лекарственных средств по оценке эквивалентности in vitro генерических лекарственных средств согласно процедуре «биовейвер». -Москва, 2010. – 16 с.

Контакты: Agilent MAPs:
maps_agilent@agilent.com

Дополнительная информация:
<http://www.your-analytical-solution.com>

This information is subject to change without notice.

© Agilent Technologies, Inc. 2013
Published in USA, September 1, 2013
5991-2986RURU

