

Г. В. Раменская<sup>1</sup>, В. С. Шлыков<sup>1</sup>, О. А. Деханова<sup>2</sup>

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЫСВОБОЖДЕНИЯ *IN VITRO* ТАБЛЕТОК ИНДАПАМИДА ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ

<sup>1</sup> Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> ОАО “ЦХЛС-ВНИХФИ”, Москва, Россия

Обсуждаются результаты теста “Растворение” для 5 различных образцов препарата индапамид пролонгированного действия. Показано, что сравнительная оценка профилей растворения может быть использована при оценке биоэквивалентности и выявлении корреляции *in vivo* – *in vitro*, а также при сопоставлении динамики высвобождения лекарственной субстанции из препаратов, отличающихся по составу или технологии.

Для твердых дозированных лекарственных форм (ЛФ) тест “Растворение” является одним из важнейших критериев качества. Кроме того, показана возможность использования его для выявления фальсифицированных лекарственных средств (ЛС) [1] и для оценки биоэквивалентности ЛС. Известно, что для пролонгированных ЛС данные по кинетике высвобождения действующих веществ являются наиболее информативными, чем для препаратов с обычным высвобождением, и позволяют значительно легче выявить корреляцию *in vitro* – *in vivo* (IVIVC) [2]. Установлено, что на скорость высвобождения могут оказывать влияние самые различные факторы: физико-химические свойства лекарственной субстанции, условия проведения теста “Растворение” (среда, аппарат и пр.), а также технология производства ЛС, состав и качество вспомогательных веществ [3]. Влияние совокупности вспомогательных веществ и технологии на динамику высвобождения делает весьма актуальными подобные исследования при оптимизации состава и выборе лекарственной формы как оригинальных, так и дженериковых препаратов.

В настоящее время в зарубежных фармакопеях и в рекомендациях по проведению исследований биоэквивалентности ЛС описаны общие условия проведения испытаний *in vitro* и методы математической обработки результатов, позволяющие проводить сопоставление профилей растворения [4 – 7]. В качестве наиболее объективного критерия принято вычисление фактора подобия ( $f_2$ ). Фактор подобия является логарифмическим выражением средних квадратов вертикальных расстояний между испытуемым и стандартным препаратами в каждой контрольной точке.

Значительно реже используется фактор различия ( $f_1$ ), представляющий собой сумму абсолютных значений  $f_2$ , выраженную в процентном отношении к сумме значений высвобождения стандартного препарата в каждой контрольной точке.

Профили растворения считаются эквивалентными, если фактор различия находится в интервале от 0 до 15, а фактор подобия — от 50 до 100.

Использование факторов подобия и различия для оценки динамики высвобождения принято в различных руководящих документах Управления по контролю за пищевыми продуктами и ЛС США (FDA), хотя с математической точки зрения вычисление фактора подобия дает более объективную информацию об эквивалентности профилей растворения, так как не зависит от перестанов-

ки в формуле значений высвобождения для стандартного и испытуемого препаратов. Следует также отметить, что нормативная база FDA для оценки динамики высвобождения для пролонгированных ЛФ и исследования корреляции IVIVC математическим методом предполагает следующие обязательные условия:

- не менее 3 контрольных точек в эксперименте;
- для каждой временной точки проводят не менее 12 параллельных определений;
- для средних значений высвобождения коэффициент вариации в начальных точках не должен превышать 20 % и не должен превышать 10 % для последующих контрольных точек.

Значительно более сложным вопросом является выбор среды растворения. Как правило, для проведения исследований, как для выявления фальсификатов, так и для оценки биоэквивалентности, используются не менее 3 – 5 различных сред: вода, растворы кислоты хлористоводородной и буферные растворы с различными значениями pH [1, 8]. Выбор сред растворения зависит прежде всего от физико-химических свойств активной субстанции. Но для проведения исследований корреляции IVIVC следует также иметь в виду биофармацевтическую классификацию, предложенную FDA. Согласно этой классификации лекарственные субстанции делятся на 4 группы в зависимости от их растворимости и кишечной проницаемости.

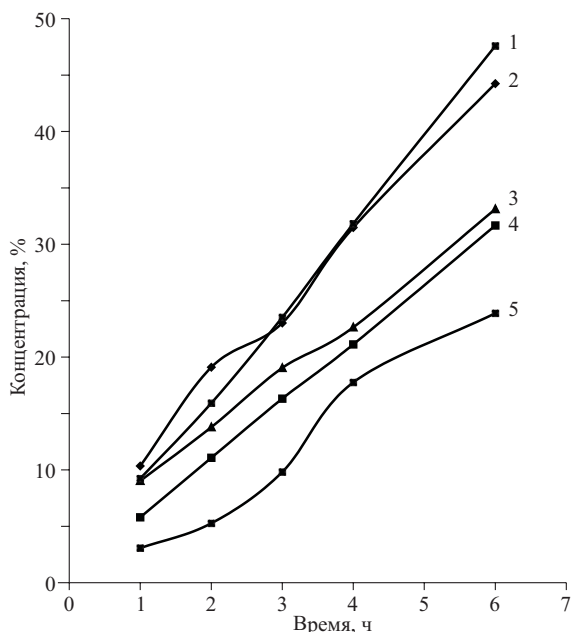
Целью настоящей работы являлось проведение сравнительной оценки высвобождения действующего вещества одного наименования из таблеток пролонгированного действия различных производителей.

### Экспериментальная часть

#### Объекты исследования, применяемые реагенты и оборудование

В настоящей работе были использованы таблетки индапамида, антигипертензивного ЛС из группы производных сульфонамидов, пролонгированного действия:

- 1) Индапамид МВ 1,5 мг ЗАО МАКИЗ-ФАРМА;
- 2) Равел СР 1,5 мг ООО “КРКА-РУС”;
- 3) Акрипамид ретард 1,5 мг ОАО “ХФК “Акрихин”;
- 4) Ионик® ретард 1,5 мг ЗАО “Фармпредприятие “Оболенское”;
- 5) Арифон ретард 1,5 мг Сервье, Франция (препарат сравнения).



**Рис. 1.** Кинетика высвобождения Индапамида в среде 0,1M раствора HCl: 1 – Акрипамид ретард; 2 – Индапамид МВ; 3 – Равел СР; 4 – Арифон ретард; 5 – Ионик ретард.

Эффект пролонгации в указанных образцах достигался за счет гидрофильной матрицы с использованием как отечественных, так и импортных вспомогательных веществ (табл. 1).

Тест “Растворение” проводили на приборе Sotax AT 7 smart (Швейцария). Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре Lambda25 Perkin Elmer (США). Контрольные пробы фильтровали через мембранные пластины “Миллипор” с диаметром пор 0,45 мкм.

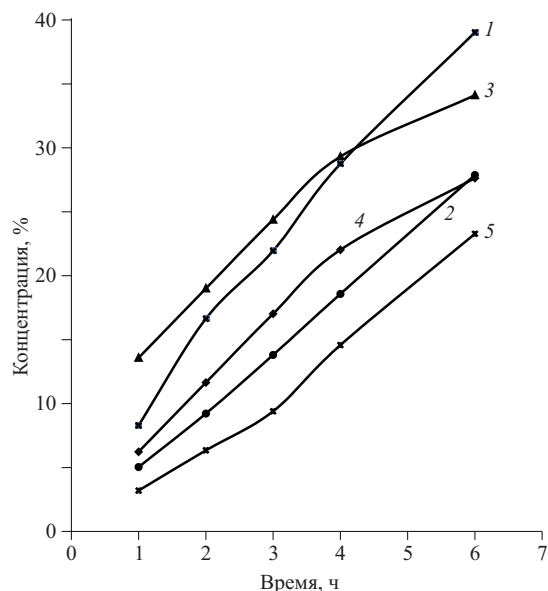
В качестве стандартного образца индапамида использовался образец фирмы “Laboratori Alchemia S. R. L.”, Италия, с 3ND0504.

#### Условия проведения эксперимента и методика контроля содержания индапамида в растворе

*Условия теста “Растворение”.* Аппарат типа “Лопастная мешалка”. Среды растворения: 1) 0,1 M раствор кислоты хлористоводородной; 2) фосфатный буферный раствор с pH 6,8; 3) ацетатный буферный раствор с pH 4,3. Объем среды растворения — 500 мл. Скорость вращения — 50 об./мин. Объем пробы — 20 мл (с восполнением объема средой растворения). Контрольные точки — 1, 2, 3, 4, 6 ч. В каждый сосуд помещали по 2 таблетки исследуемого препарата.

#### Общая методика проведения испытаний

Определение содержания индапамида, высвободившегося в среду растворения, проводилось спектрофотометрическим методом. Измерение оптической плотности контрольного раствора проводили в максимуме поглощения индапамида при 240 нм. УФ-спектры индапамида,



**Рис. 2.** Кинетика высвобождения Индапамида в фосфатном буфере: 1 – Акрипамид ретард; 2 – Индапамид МВ; 3 – Равел СР; 4 – Арифон ретард; 5 – Ионик ретард.

снятые в 3 указанных средах, в области от 230 до 330 нм имели полное совпадение максимумов поглощения, как по расположению, так и по интенсивности. Линейность спектрофотометрического метода была предварительно проверена для диапазона концентраций от 0,00012 до 0,00031 %.

Статистическая оценка параметров линейной зависимости:

$$y_{cp} = 0,151; x_{cp} = 0,002056; a = 0,01057; b = 682,78; S_0^2 = 0,0000106; r = 0,9993.$$

На рис. 1 – 3 представлены усредненные профили растворения. В табл. 2 представлены значения факторов подобия и различия, вычисленные относительно препарата сравнения Арифон ретард.

Фактор различия ( $f_1$ ) вычисляли по формуле:

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{i=1}^n R_t} \right\} \cdot 100\%,$$

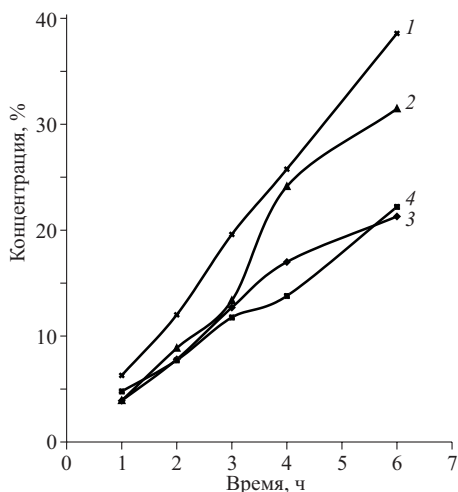
где  $n$  — число точек времени;  $R$  и  $T$  — процентное содержание индапамида (среднее значение), высвободившегося в среду растворения, в каждый момент времени ( $t$ ) из препарата сравнения ( $R$ ) и испытуемого препарата ( $T$ ).

Фактор подобия ( $f_2$ ) вычисляли по формуле:

#### Заявленный состав гидрофильной матрицы для каждого препарата

Таблица 1

Индапамид МВ	Равел СР	Акрипамид ретард	Ионик® ретард	Арифон ретард
Метоцель, лактоза, аэросил, магния стеарат	ГПМЦ, повидон, цел-лактоза, кремния ангидрид коллоидный, магния стеарат	Лудипресс, ГПМЦ, аэросил, магния стеарат, макрогол (ПЭГ), глицерол, титана диоксид, тальк, лактоза	Гипромелоза (Бенецел МР), коллидон, лактоза, целлюлоза микрокристаллическая, аэросил, магния стеарат	ГПМЦ, повидон, лактозы моногидрат, кремния ангидрид коллоидный, магния стеарат



**Рис. 3.** Кинетика высвобождения Индапамида в ацетатном буфере: 1 – Акрипамид ретард; 2 – Индапамид МВ; 3 – Арифон ретард; 4 – Ионик ретард.

$$f_2 = 50 \log_{10} \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{-0,5} \cdot 100 \right\},$$

где  $n$  — число временных точек;  $R$  и  $T$  — процентное содержание индапамида (среднее значение), высвободившегося в среду растворения, в каждый момент времени ( $t$ ) из стандартного образца ( $R$ ) и испытуемого препарата ( $T$ ).

Относительные стандартные отклонения средних значений высвобождения в первой и второй контрольных точках для всех препаратов не превышали 20 %, а в последующих контрольных точках находились в интервале от 2,2 до 9,6 %.

### Результаты и их обсуждение

1. При изучении кинетики высвобождения Индапамида из ЛС пролонгированного действия различных производителей были выявлены интересные различия в характере профилей растворения в различных средах. Несмотря на то что эффект пролонгации индапамида в различных препаратах обеспечивался по одному и тому же технологическому принципу (гидрофильная матрица), несомненное влияние на динамику высвобождения ока-

зывают не только некоторые различия в композиции матрицы, но и качество используемых вспомогательных веществ.

Для препарата сравнения Арифон ретард в 0,01 М растворе кислоты хлористоводородной и фосфатном буферном растворе наблюдается практически линейное увеличение концентрации индапамида во времени. В ацетатном буферном растворе наблюдалось некоторое замедление высвобождения, начиная с 3 – 4 контрольной точки.

Сходная динамика высвобождения в 0,01 М растворе кислоты хлористоводородной и фосфатном буферном растворе отмечена также для препарата Акрипамид ретард. Но в ацетатном буферном растворе динамика высвобождения принципиально отличается — в контрольной точке 3, при сохранении общей линейности графика отмечено незначительное снижение концентрации индапамида.

Для препарата Индапамид МВ практически линейное нарастание концентрации индапамида наблюдается только в фосфатном буферном растворе в течение первых 4 ч. А в 0,01 М растворе кислоты хлористоводородной график высвобождения имеет значительный отрицательный прогиб в контрольной точке 3. Но именно в ацетатном буферном растворе наблюдаются самые значительные различия — после контрольной точки 3 резко увеличивается скорость высвобождения индапамида, что отражается на графике в виде скачкообразного перегиба.

В препарате Равел СР также отмечены некоторые изменения в динамике высвобождения индапамида в интервале между контрольными точками 3 и 4, но они выражены в меньшей степени и общую картину динамики можно соотнести с таковой для стандартного препарата.

Препарат Ионик® ретард имеет сходную со стандартным препаратом динамику высвобождения индапамида только для фосфатного буферного раствора. В 0,01 М растворе кислоты хлористоводородной наблюдается характерное отличие в интервале от 1 до 4 контрольной точки. В ацетатном буферном растворе увеличение концентрации индапамида линейно увеличивается в контрольной точке 6 при наличии незначительного снижения в контрольной точке 3.

Сопоставление общего характера профилей растворения для различных сред показывает, что если для 0,01 М раствора кислоты хлористоводородной и фосфатного буферного раствора можно найти некоторые корреляции, то

Т а б л и ц а 2

### Значения факторов различия и подобию для индапамида в препаратах различных производителей

Испытуемый препарат	Среда растворения	$f_1$	$f_2$
Индапамид МВ 1,5 мг ЗАО “МАКИЗ-ФАРМА”	0,01 М раствор кислоты НСl	49,1	52,4
	Фосфатный буферный раствор, рН 6,8	15,8	77,4
	Ацетатный буферный раствор, рН 4,3	30,1	62,4
Акрипамид ретард 1,5 мг ОАО “ХФК “Акрихин”	0,01 М раствор кислоты НСl	48,9	51,0
	Фосфатный буферный раствор, рН 6,8	55,6	52,9
	Ацетатный буферный раствор, рН 4,3	62,7	51,2
Ионик® ретард 1,5 мг ЗАО “Фармпредприятие “Оболенское”	0,01 М раствор кислоты НСl	31,7	59,4
	Фосфатный буферный раствор, рН 6,8	21,1	71,0
	Ацетатный буферный раствор, рН 4,3	11,4	84,5
Равел СР 1,5 мг ООО “КРКА-РУС”	0,01 М раствор кислоты НСl	13,5	78,9
	Фосфатный буферный раствор, рН 6,8	61,5	51,4

при использовании ацетатного буферного раствора ни один из исследованных препаратов не показал сходную динамику. Таким образом, можно заключить, что данная среда выявляет максимальные различия в динамике высвобождения между оригинальным и дженериковым препаратом. Интересно, что данные, полученные для индапамида, коррелируются с проведенными ранее аналогичными исследованиями для препаратов групп фторхинолонов [9].

2. При анализе вычисленных значений факторов различия и подобия была отмечена одна общая тенденция — фактор различия, как правило, превышал рекомендуемые нормы. Исключением являлись результаты, полученные в ацетатном буферном растворе для препарата Ионик® ретард и в растворе кислоты хлористоводородной для препарата Равел СР. Самое большое значение фактора различия отмечено для препарата Акрипамид ретард, при этом значение фактора различия практически не зависело от среды.

Несколько иная картина наблюдалась при сопоставлении значений факторов подобия. Все полученные значения фактора подобия находились в пределах рекомендуемых норм. Однако для препарата Акрипамид ретард степень подобия была самая низкая. Наиболее эквивалентными стандартному препарату по значению факторов подобия были Индапамид МВ и Ионик® ретард.

Как уже отмечалось, более приоритетными для сравнительной оценки динамики высвобождения являются значения факторов подобия. При исследовании кинетики растворения ЛС *in vitro* в рамках изучения биоэквивалентности ЛС проводится вычисление именно этого критерия.

Таким образом, даже ограничиваясь вычисленными значениями фактора подобия, но, принимая во внимание значения факторов различия, следует признать, что из исследуемой группы препаратов высвобождение индапамида из препарата Акрипамид ретард и Арифон ретард нельзя считать эквивалентным. Это не противоречит обсуждаемому выше графическому сходству профилей растворения препаратов. При внешнем общем сходстве динамики высвобождения в среде 0,01 М раствора кислоты хлористоводородной и фосфатного буферного раство-

ра скорость высвобождения индапамида из препарата Акрипамид ретард выше, чем из препарата сравнения.

Таким образом, проведенные исследования позволяют достоверно выявить различия в динамике высвобождения *in vitro* индапамида из препаратов различных производителей. Для объективной сравнительной оценки необходимо опираться именно на совокупность графических и расчетных данных.

Проведенные исследования высвобождения *in vitro* могут рассматриваться как предварительные испытания перед проведением исследований *in vivo*, в частности исследований по биоэквивалентности. Данный тест при сравнительно небольших экономических и временных затратах может широко использоваться на стадии разработки состава и технологии воспроизведенного препарата. В случае, когда у ранее выпускавшегося препарата меняется состав вспомогательных веществ или технологическая площадка (место производства), данный тест должен быть обязательным методом контроля для подтверждения сохранения параметров динамики высвобождения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. П. Арзамасцев, В. Л. Дорофеев, А. А. Коновалов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **38**(3), 48 (2004).
2. В. П. Жердев, Г. Б. Колыванов, А. А. Литвин, *Фарматека*, № 3, 109 – 112 (2003).
3. *Матер. симпозиума фирмы Colorcon*, Москва (2004); [www.colorcon.com](http://www.colorcon.com).
4. *US Food and Drug Administration*, Rocville, MD, USA (1997), Guidance for Industry, Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms.
5. *US Food and Drug Administration*, Rocville, MD, USA (1997), Guidance for Industry, Modified Release Solid Oral Dosage Forms.
6. Т. О'Нара, А. Dunne, J. Butler, et al., *Pharm., Sci. Technol. Today*, № 5, 212 – 223 (1998).
7. *МУ Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств*, Москва (2004), с. 41.
8. Д. А. Чиждова, Н. Д. Бунятян, Г. Ф. Василенко, *Фармация*, № 2, 50 – 52 (2008).
9. В. Л. Дорофеев, *Дисс. докт. фарм. наук*, Москва (2005), сс. 68 – 75, 257 – 274.

Поступила 26.06.08

## COMPARATIVE *in vitro* DISSOLUTION TESTING OF INDAPAMIDE PROLONGED-RELEASE PREPARATIONS

G. V. Ramenskaya<sup>1</sup>, V. S. Shlykov<sup>1</sup>, and O. A. Dekhanova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sechenov Medical Academy, Moscow, Russia;

<sup>2</sup> Center for Drug Chemistry – All-Russia Research Institute of Pharmaceutical Chemistry, Moscow, Russia

The results of dissolution testing of five modified release dosage forms of indapamide are presented. It is shown that the comparative analysis of dissolution profiles can be used to develop *in vivo* – *in vitro* correlations and to establish the similarity of drug bioavailability in various ready-to-use dosage forms, for which composition, technology, or scale of manufacturing may have been changed.