

Оценка влияния автоматизации на вариабельность результатов теста «Растворение» на примере лекарственного препарата «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг»

Г. Ф. Василенко¹, Н. С. Дубовик², И. Е. Шохин², Г. Н. Гильдеева²,
Г. В. Раменская², Л. А. Павлова²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, Москва, Россия

Статья поступила 16.11.2015 г. Принята к печати 30.08.2016 г.

Резюме: В статье приведен анализ результатов теста «Растворение» на оборудовании с ручным и автоматическим отбором проб для препарата «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг». По результатам подсчетов установлено, что данные, полученные при проведении теста на ручной системе, и данные, полученные при проведении теста на автоматической системе, статистически тождественны по среднему значению и дисперсии (на уровне значимости $\alpha = 0,05$), тем самым доказывая, что автоматизация теста «Растворение» не влияет на вариабельность результатов испытания.

Ключевые слова: тест «Растворение»; бетагистина дигидрохлорида таблетки; автоматизация; вариабельность результатов испытания.

Библиографическое описание: Василенко ГФ, Дубовик НС, Шохин ИЕ, Гильдеева ГН, Раменская ГВ, Павлова ЛА. Оценка влияния автоматизации на вариабельность результатов теста «Растворение» на примере лекарственного препарата «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг». Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (3): 53–57.

Главной задачей современной биофармации является изучение биодоступности лекарственных препаратов (ЛП) с целью повышения их терапевтического эффекта и уменьшения побочного действия на организм [1]. Ключевой этап этого процесса — поведение ЛП в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Для моделирования такого процесса в условиях *in vitro* применяется тест «Растворение», являющийся незаменимым инструментом для разработки и анализа ЛП в твердых дозированных лекарственных формах, при помощи которого можно осуществлять подбор оптимального состава ЛП, оценивать поведение действующего вещества при проведении сравнительных исследований *in vitro*, контролировать изменения в процессе производства, определять качество готового препарата. Также тест «Растворение» играет важнейшую роль для оценки взаимозаменяемости ЛП, в связи с наличием на фармацевтическом рынке большого числа воспроизведенных ЛП [2–4].

Тест «Растворение» применяется на протяжении всего жизненного цикла лекарственного средства — как на различных этапах фармацевтической разработки, так и при пострегистрационных исследованиях.

Выполнение теста «Растворение» на современном автоматическом оборудовании, которое, по данным зарубежной литературы, является необходимым для выполнения высококачественных исследований в соответствии с GMP, позволит существенно сократить время и затраты. Однако для того, чтобы выполнять исследования на автоматическом оборудовании, необходимо проводить перенос методик теста с ранее используемого ручного оборудования с подтверждением того, что автоматизированный процесс не по-

влияет на вариабельность результатов высвобождения действующего вещества из ЛП [5–7].

Целью данной работы является оценка влияния автоматизации на вариабельность высвобождения действующих веществ *in vitro* из ЛП на примере препарата «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования. Для исследования нами был выбран ЛП «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг», приобретенный в аптечной сети Москвы.

На основании базы данных отдела разработки лекарственных средств НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова и рекомендаций общей фармакопейной статьи Фармакопеи США 1092 «Разработка и валидация теста «Растворение», в которой указано, что величина относительного стандартного отклонения не должна превышать 20 % для первой временной точки и не превышать 10 % для последующих временных точек, ЛП «Бетагистина гидрохлорид» был отнесен к низковариабельным препаратам с точки зрения высвобождения [8].

Оборудование:

- Прибор для проведения теста «Растворение» Agilent Technologies 708-DS Dissolution Apparatus, США (система с ручным отбором проб)
- Прибор для проведения теста «Растворение» Erweka GmbH HADs (Half-automated dissolution system), Германия (система с автоматическим отбором проб)
- УФ-спектрофотометр Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis, США

- ВЭЖХ Agilent Technologies 1200 Series с диодно-матричным детектором, США
- Весы электронные OHAUS Discovery DV 214C, Швейцария
- Дозатор пипеточный одноканальный с переменным объемом «Ленпипет Блэк» ДПОП-1-500-5000
- Аппарат для фильтрации и дегазации растворов «Millipore», вакуумный насос XF54 230 50
- Портативный рН-метр 728 pH lab, «Metrohm AG», Швейцария
- Магнитная мешалка MSH-300i с подогревом, 100–1250 об/мин, платформа 160 мм, «Biosan».

Все используемые в работе средства измерения были зарегистрированы в Государственном реестре средств измерений [9] и имели действительные свидетельства о поверке.

Приготовление среды растворения. Фосфатный буферный раствор pH 6,8 готовили следующим образом: 11,790 г натрия фосфорнокислого 2-замещенного 12-водного и 4,609 г калия фосфата 2-замещенного вносили в мерный стакан вместимостью 1000 мл, прибавляли 400 мл воды, перемешивали с использованием магнитной мешалки в течение приблизительно 30 мин до полного растворения, затем переносили в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводили объем раствора до метки водой и тщательно перемешивали. Измеряли pH раствора на pH-метре, при необходимости доводили pH до 6,8 раствором фосфорной кислоты или 0,1 М раствором натрия гидроксида.

Приготовление стандартного раствора бетагистина дигидрохлорида. Около 26,66 мг (точная навеска) стандартного образца бетагистина дигидрохлорида помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл и прибавляли около 70 мл среды растворения, перемешивали до полного растворения, доводили объем раствора до метки средой растворения и перемешивали. 10 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем раствора до метки средой растворения, перемешивали.

Методика проведения теста «Растворение» на оборудовании с ручным отбором проб. Тест «Растворение» проводили согласно ОФС 42-0003–04 «Растворение» [10] на аппарате «вращающаяся корзинка» при скорости вращения 50 об/мин при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$. Среда растворения — буферный раствор pH 6,8. Объем среды растворения — 900 мл. Временные точки отбора проб: 10 мин, 15 мин, 20 мин, 30 мин, 45 мин.

В каждый из 6 сосудов для растворения с 1000 мл воды, предварительно термостатированными при $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, помещали по 1 таблетке исследуемого лекарственного средства. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 5 мл среды, который незамедлительно восполняли таким же объемом среды растворения. Отобранные пробы фильтровали через мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата (*испытываемый раствор*).

Методика проведения теста «Растворение» на оборудовании с автоматическим отбором проб. Тест «Растворение» проводили согласно ОФС 42-0003–04 «Растворение» [10] на аппарате «вращающаяся корзинка» при скорости вращения 50 об/мин при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$. Среда растворения — буферный раствор pH 6,8. Объем среды растворения — 900 мл.

Временные точки отбора проб: 10 мин, 15 мин, 20 мин, 30 мин, 45 мин.

В каждый из 6 сосудов для растворения с 1000 мл воды, предварительно термостатированными при $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, помещали по 1 таблетке исследуемого лекарственного средства. Спустя указанные промежутки времени автоматически отбирались пробы в объеме 1,0 мл.

Методика количественного определения. Количественное определение проводили методом УФ-спектрофотометрии. Измеряли оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов на спектрофотометре в кварцевой кювете с толщиной слоя 10 мм в области максимального поглощения при длине волны 260 нм, используя в качестве раствора сравнения буферный раствор pH 6,8.

Количество бетагистина дигидрохлорида ($Q\%$), перешедшее в раствор от заявленного количества, рассчитывали по формуле:

$$Q\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot 10 \cdot 900 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot L \cdot 100},$$

где A — оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 — оптическая плотность стандартного раствора; a_0 — навеска стандартного образца бетагистина дигидрохлорида, мг; L — содержание бетагистина дигидрохлорида в одной таблетке, мг; P — содержание бетагистина дигидрохлорида в стандартном образце, %; 900 — объем среды растворения, мл; 100 — объемы мерных колб, взятых для приготовления испытуемых и стандартного растворов, мл.

Статистическая обработка результатов эксперимента. Статистическую обработку результатов эксперимента осуществляли с использованием пакета Microsoft Office Excel 2007 путем расчета среднего значения количества растворившейся субстанции и относительного стандартного отклонения (RSD, %).

Для оценки влияния автоматизации на проведение теста «Растворение» проводили статистическую обработку, используя двухвыборочный F -тест для дисперсии и t -тест для независимых выборок с использованием критерия Стьюдента. Расчеты для двухвыборочного F -теста для дисперсии проводили с помощью программы Excel. Для дисперсионного анализа была принята нулевая гипотеза H_0 ; данные теста «Растворение», выполненные на ручной системе, статистически тождественны с данными, выполненными на автоматической системе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Индивидуальные и усредненные значения количества бетагистина дигидрохлорида, высвободившегося в раствор из ЛП «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг» при проведении теста «Растворение» на оборудовании с ручным отбором проб приведены в таблице 1. Усредненный профиль растворения исследуемого ЛП представлен на рисунке 1.

Индивидуальные и усредненные значения количества бетагистина дигидрохлорида, высвободившегося из исследуемого ЛП при проведении теста «Растворение» на оборудовании с автоматическим отбором проб, приведены в таблице 2. Усредненный профиль растворения исследуемого ЛП представлен на рисунке 2.

Полученные значения статистической обработки результатов теста «Растворение» на оборудовании с

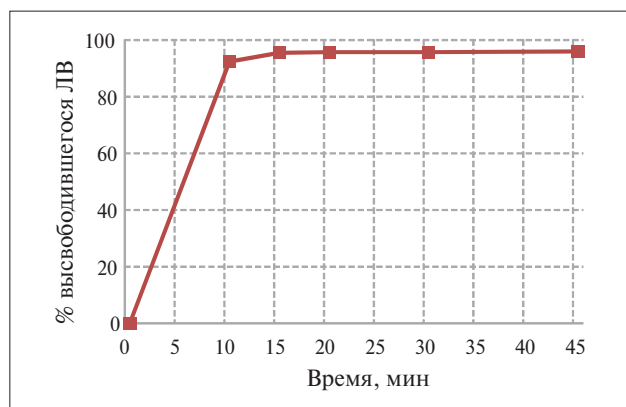


Рис. 1. Усредненный профиль растворения ЛП «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг»

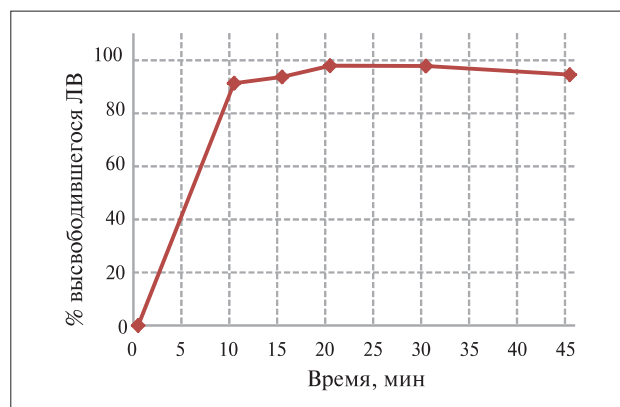


Рис. 2. Усредненный профиль растворения ЛП «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг»

Таблица 1

**ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ И УСРЕДНЕННЫЕ
ЗНАЧЕНИЯ БЕТАГИСТИНА ДИГИДРОХЛОРИДА,
ВЫСВОБОДИВШЕГОСЯ В РАСТВОР ИЗ ЛП
«БЕТАГИСТИНА ГИДРОХЛОРИД ТАБЛЕТКИ 16 МГ»**

№ пробы	10	15	20	30	45
1	92,14	94,50	93,83	93,83	93,83
2	95,51	98,55	98,89	97,20	97,54
3	88,76	92,81	94,50	95,18	95,85
4	92,14	94,16	93,15	94,16	94,50
5	95,85	99,23	99,23	97,88	98,21
6	89,78	93,49	94,84	96,19	95,85
Среднее, %	92,36	95,46	95,74	95,74	95,96
RSD, %	3,13	2,86	2,75	1,71	1,76

Таблица 2

**ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ И УСРЕДНЕННЫЕ ЗНАЧЕНИЯ
БЕТАГИСТИНА ДИГИДРОХЛОРИДА,
ВЫСВОБОДИВШЕГОСЯ В РАСТВОР ИЗ ЛП
«БЕТАГИСТИНА ГИДРОХЛОРИД ТАБЛЕТКИ 16 МГ»**

№ пробы	10	15	20	30	45
1	96,33	92,99	93,90	97,55	101,20
2	103,02	98,16	96,03	96,94	99,07
3	88,74	99,98	93,30	97,55	104,96
4	90,56	94,51	96,64	104,24	97,85
5	82,96	94,21	91,17	96,64	97,25
6	86,61	94,81	89,34	100,28	100,59
Среднее, %	91,37	95,78	93,40	98,87	100,15
RSD, %	7,91	2,81	2,99	2,97	2,80

Таблица 3

**ЗНАЧЕНИЯ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДВУХВЫБОРОЧНОГО F-ТЕСТА ДЛЯ ДИСПЕРСИИ И t-ТЕСТА (КРИТЕРИЙ СТЬЮДЕНТА)
ДЛЯ ЛП «БЕТАГИСТИНА ГИДРОХЛОРИД ТАБЛЕТКИ 16 МГ»**

Временная точка, мин	$F_{\text{крит}}$	$F_{\text{эмп}}$	$t_{\text{крит}}$	$t_{\text{эмп}}$
10	5,05	6,24	2,23 (для $P \leq 0,05$), 3,17 (для $P \leq 0,01$)	0,3
15	5,05	1,88	2,23 (для $P \leq 0,05$), 3,17 (для $P \leq 0,01$)	0,9
20	5,05	8,11	2,23 (для $P \leq 0,05$), 3,17 (для $P \leq 0,01$)	0,7
30	5,05	12,8	2,23 (для $P \leq 0,05$), 3,17 (для $P \leq 0,01$)	0,9
45	5,05	12,66	2,23 (для $P \leq 0,05$), 3,17 (для $P \leq 0,01$)	0,5

Примечание: На всех временных точках, за исключением второй, $F_{\text{крит}} < F_{\text{эмп}}$, $t_{\text{эмп}}$ находится в зоне незначимости

ручным и автоматическим отбором проб представлены в таблице 3.

По результатам статистической обработки результатов исследования теста «Растворение» на ручной и автоматической системах для препарата «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг» с помощью двухвыборочного F-теста для дисперсии и t-теста для независимых выборок с использованием критерия Стьюдента установлено, что данные, полученные при проведении теста на ручной системе, и данные, полученные при проведении теста на автоматической системе, статистически тождественны по среднему значению и дисперсии (на уровне значимости $\alpha = 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведения теста «Растворение» на оборудовании с ручным и автоматическим отбором проб нами была подтверждена вариабельность высвобождения действующего вещества из ЛП «Бетагистина гидрохлорид таблетки 16 мг».

По результатам подсчетов установлено, что данные, полученные при проведении теста на ручной системе, и данные, полученные при проведении теста на автоматической системе, статистически тождественны по среднему значению и дисперсии (на уровне значимости $\alpha = 0,05$), тем самым доказывая, что ав-

томатизация теста «Растворение» не влияет на вариативность результатов испытания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тенцова АИ. Лекарственная форма и терапевтическая эффективность лекарств. М.: Медицина; 1974.
2. Раменская ГВ, Недогода СВ, Шохин ИЕ, Савченко АЮ, Шлыков ВС. Терапевтическая и биофармацевтическая оценка препаратов индапамида. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2011; **10**(8): 105–9.
3. Zhang Hua Yu, Lawrence X. Dissolution testing for solid oral drug products: theoretical considerations. Amer Pharm Rev. 2010; (6): 1–4.
4. Смехова ИЕ, Перова ЮМ, Кондратьева ИА, Родыгина АН, Турецкова НН. Тест «Растворение» и современные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов. Разработка и регистрация лекарственных средств 2013; **1**(2): 50–60.
5. Возможности фармацевтического-технологического оборудования ERWEKA. Разработка и регистрация лекарственных средств. Спецвыпуск Аналитика ЭКСПО 2013: 6–10.
6. Iarriccio A, Kassis A, Patel T. Increasing the Efficiency of the Dissolution Laboratory through Automation. The Review of American Pharmaceutical Business and Technology 2011.
7. Kretz J, Wong-Moon K. Evaluation of Automation to Increase Efficiency in the Dissolution Lab. Dissolution Technologies 2013; **20**(2): 33–7.
8. USP 33 — NF 28. Monograph 1092 «The Dissolution Procedure: Development and Validation».
9. Государственный реестр средств измерений. Available from: http://www.fundmetrology.ru/10_tipy_si/list.aspx.
10. Государственный стандарт качества лекарственного средства. ОФС 42-0003-04 «Растворение». М.; 2004.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.
Василенко Галина Федоровна. Ведущий научный сотрудник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2.

Дубовик Наталья Сергеевна. Ассистент кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А. П. Арзамасцева, канд. фарм. наук.
Шохин Игорь Евгеньевич. Старший преподаватель кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А. П. Арзамасцева, канд. фарм. наук.

Гильдеева Гэлия Нязифовна. Доцент кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств, канд. фарм. наук.
Раменская Галина Владиславовна. Заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии им. А. П. Арзамасцева, д-р фарм. наук, проф.

Павлова Людмила Анатольевна. Заведующий лабораторией фармакокинетики Научно-исследовательского института фармации, доцент, канд. фарм. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Василенко Галина Федоровна; elmed@yandex.ru

ASSESSING THE IMPACT OF THE AUTOMATION ON THE VARIABILITY OF THE «DISSOLUTION» TEST RESULTS AS EXEMPLIFIED BY «BETAHISTINE HYDROCHLORIDE TABLETS 16 MG»

G. F. Vasilenko¹, N. S. Dubovik², I. E. Shohin², G. N. Gildeeva², G. V. Ramenskaya², L. A. Pavlova²

¹ Federal State Budgetary Institution
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia
² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russia

Abstract: The article analyses the results of dissolution testing of Betahistine hydrochloride 16 mg tablets using both manual and automatic sampling. The analysis showed that the data obtained with manual sampling are statistically identical to those obtained with automatic sampling in terms of average values and variance (with significance level $\alpha = 0,05$), which confirms that the automation of the dissolution test does not affect the variability of test results.

Key words: dissolution test; betahistine hydrochloride tablets; automation; variability of the test results.

For citation: Vasilenko GF, Dubovik NS, Shohin IE, Gildeeva GN, Ramenskaya GV, Pavlova LA. Assessing the impact of the automation on the variability «dissolution» test results as exemplified by «Betahistine hydrochloride tablets 16 mg». The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2016; (3): 53–57.

REFERENCES

1. Tentsova AI. The dosage form and the therapeutic efficacy of drugs. Moscow: Meditsina; 1974 (in Russian).
2. Ramenskaya GV, Nedogoda SV, Shohin IE, Savchenko AYU, Shlykov VS. Therapeutic drugs and biopharmaceutical evaluation of indapamide. Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika 2011; **10**(8): 105–9 (in Russian).
3. Zhang Hua Yu, Lawrence X. Dissolution testing for solid oral drug products: theoretical considerations. Amer Pharm Rev. 2010; (6): 1–4.
4. Smehova IE, Perova YuM, Kondratiev IA, Rodygina AN, Turetskova NN. Test «Dissolution» and modern approaches to the assessment of equivalence of drugs. Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv 2013; **1**(2): 50–60 (in Russian).
5. Features of pharmaceutical technological equipment ERWEKA. The development and registration of drugs. Special Issue Analytics EXPO 2013: 6–10 (in Russian).
6. Iarriccio A, Kassis A, Patel T. Increasing the Efficiency of the Dissolution Laboratory through Automation. The Review of American Pharmaceutical Business and Technology 2011.

7. Kretz J, Wong-Moon K. Evaluation of Automation to Increase Efficiency in the Dissolution Lab. *Dissolution Technologies* 2013; **20**(2): 33–7.
8. USP 33 — NF 28. Monograph 1092 «The Dissolution Procedure: Development and Validation».
9. State Register of measuring instruments. Available from: http://www.fundmetrology.ru/10_tipy_si/list.aspx (in Russian).
10. State quality standard drug. GPA 42-0003–04 «Dissolution». Moscow; 2004 (in Russian).

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation.
Vasilenko GF. Leading researcher of Clinical Pharmacokinetics Department of Clinical Pharmacology Center.

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya street 8, bld. 2, Moscow 119991, Russian Federation.
Dubovik NS. Assistant of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry named by A. P. Arzamastsev. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Shohin IE. Senior lecturer of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry named by A. P. Arzamastsev. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Gildeeva GN. Docent of the Department of Organization and Management of Circulation of Medicines. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

Ramenskaya GV. Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry named by A. P. Arzamastsev. Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor.

Pavlova LA. Head of Laboratory of Pharmacokinetics of the Research Institute of Pharmacy. Candidate of Pharmaceutical Sciences.