

УДК 615.074,66.061.16

М. И. Борщевская¹, А. И. Гризодуб², О. С. Ремез¹, Г. И. Борщевский¹ОАО «Фармак»¹,ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»²

ОПИСАНИЕ ПРОФИЛЕЙ РАСТВОРЕНИЯ В РАМКАХ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ «IN VITRO»

Для описания профилей растворения при исследовании биоэквивалентности «in vitro» предложено использовать экспоненциальную и Ленгмюровскую модели. Показано адекватность описания ими экспериментальных кривых растворения для разных составов экспериментальных прописей таблеток левотироксина, сред растворения, диапазонов времени и степени растворения. Показано, что простая Ленгмюровская модель дает лучшие результаты, чем экспоненциальная.

Ключевые слова: кинетика растворения, биоэквивалентность, in vitro, математическое описание, левотироксин

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Доказательство биоэквивалентности – одно из обязательных условий при воспроизводстве и регистрации препаратов-генериков [1]. При исследовании биоэквивалентности твердых лекарственных препаратов-генериков «in vitro» [1] проводится изучение профилей высвобождения целевых действующих веществ во времени в рамках проведения теста «Растворение» [2]. Данные исследования особенно важны на стадии отработки технологии получения препаратов-генериков и являются одним из важных элементов обеспечения их качества.

Поэтому представляет интерес математическое описание кинетических кривых высвобождения. Полученные уравнения могут быть использованы как для сравнения с оригинальными препаратами, так и для оценки предельной степени высвобождения (G_o) для данной технологической прописи в данной среде растворения.

АНАЛИЗ ПОСЛЕДНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПУБЛИКАЦИЙ

Как было показано нами ранее [5-8], профили высвобождения действующих веществ из мазей и суппозиторий хорошо описываются двухпараметрической экспоненциальной моделью:

$$G(t) = G_o \cdot (1 - e^{-k \cdot t}) \quad (1)$$

Здесь $G(t)$ – степень растворения (обычно в процентах к номинальному содержанию в препарате) для времени растворения t . Параметр G_o имеет смысл предельной степени растворения для бесконечного времени растворения, k – коэффициент скорости растворения.

Экспоненциальная модель (1) не может быть приведена к линейному виду и для нахождения ее параметров требуется применение нелинейного метода наименьших квадратов [5-8]. Поэтому на практике более удобной является двухпараметрическая Ленгмюровская модель:

$$G(t) = \frac{G_o \cdot k \cdot t}{1 + k \cdot t} \quad (2)$$

которую можно рассматривать как разложение экспоненциальной модели (1) в ряд Маклорена [5, 6]. В отличие от экспоненциальной модели (1), Ленгмюровская форма (2) легко приводится к линейному виду [3-4]:

$$Y = \frac{1}{G(t)} = \left(\frac{1}{G_o}\right) + \left(\frac{1}{G_o \cdot k}\right) \cdot \frac{1}{t} = a + b \cdot X, \quad X = \frac{1}{t} \quad (3)$$

Параметры G_o и k могут быть легко найдены после обработки уравнения (3) линейным методом наименьших квадратов [3-5, 8] из параметров линейной регрессии (3):

$$G_o = \frac{1}{a}, \quad k = \frac{a}{b} \quad (4)$$

Уравнения (1-4) хорошо зарекомендовали себя при описании высвобождения из мазей и суппозиторий [5-8], а также при описании зависимости растворимости субстанций от размера частиц [4].

ВЫДЕЛЕНИЕ НЕРЕШЕННЫХ РАНЕЕ ЧАСТЕЙ ОБЩЕЙ ПРОБЛЕМЫ

Следует отметить, что применимость соотношений (1-4) была продемонстрирована для мазей и суппозиторий в рамках полной кривой высвобождения [5-8]. На практике же наибольший интерес представляют таблетки. В качестве сред высвобождения использовались 0.1 М хлористоводородная кислота и вода [5-8], т.е. данные исследования не были связаны со стандартными фармакопейными требованиями проведения биоэквивалентности «*in vitro*» в трех буферах с pH 1,2; 4,5 и 6,8 [1]. Кроме того, при отработке технологии нередко возникает необходимость описания каких-то частей полной кривой высвобождения.

ФОРМИРОВАНИЕ ЦЕЛЕЙ СТАТЬИ

Естественно предположить, что соотношения (1-4) будут корректны и для описания кинетики растворения таблеток. В данной работе предпринята попытка проверки их применимости для описания кривых растворения различных прописей таблеток левотиноксина в рамках фармакопейных [1] исследований их биоэквивалентности на стадии отработки технологии. При этом предполагается варьирование составов таблеток, высвобождающих сред, времени и диапазона степени растворения

ИЗЛОЖЕНИЕ ОСНОВНОГО МАТЕРИАЛА

Следует отметить, что обработка экспериментальных зависимостей $G(t)$ степени растворения от времени по экспоненциальной модели (1) с помощью НМНК сразу дает величины G_o , k , их стандартные отклонения $SD(G_o)$, $SD(k)$, остаточное стандартное отклонение $SD_{rest}(G)$ экспериментальных величин $G_{exp}(t)$ вокруг рассчитанной кривой $G_{calc}(t)$ и коэффициент корреляции $R(G)$ в величинах G . Отметим, что именно эти величины и представляют интерес для практического описания экспериментальных данных.

В то же время, обработка экспериментальных зависимостей $G(t)$ по линеаризованной Ленгмюровской модели (3) дает нам параметры a и b линейной зависимости (3), их стандартные отклонения SD_a , SD_b , остаточное стандартное отклонение $SD_{rest}(1/G)$ экспериментальных точек $(1/G)$ вокруг прямой (3) и коэффициент корреля-

ции $R(1/g)$ в единицах $1/G$. Как видно, данные параметры Ленгмюровской модели (3) нельзя сравнить с соответствующими параметрами экспоненциальной модели (1), что не позволяет провести сравнение эффективности описания экспериментальных данных разными моделями.

Для приведения параметров Ленгмюровской модели (3) к тому же виду, что и для экспоненциальной модели (1), получают по уравнению (4) параметры G_o и k . Проводя соответствующее дифференцирование (как для функции нескольких случайных переменных) соотношений (4), получим выражения связи между $SD(G_o)$, $SD(k)$ и SD_a , SD_b [7]:

Ленгмюровская модель:
$$SD(G_o) = \frac{SD_a}{a^2}. \quad (5)$$

Ленгмюровская модель:
$$SD(k) = k \cdot \sqrt{\frac{SD_a^2}{a^2} + \frac{SD_b^2}{b^2}}. \quad (6)$$

Получая по уравнениям (2, 4) расчетные величины G_{calc} для всех n временных точек и вычитая из них экспериментальные значения G_{exp} , найдем остаточное стандартное отклонение $SD_{rest}(G)$ в величинах G :

Ленгмюровская модель:
$$SD_{rest}(G) = \sqrt{\frac{(G_{calc} - G_{exp})^2}{n-2}}. \quad (7)$$

Здесь 2 – число параметров прямой (3).

Коэффициент корреляции $R(G)$ прямой (3) в величинах G найдем из соотношения (7):

Ленгмюровская модель:
$$R(G) = \sqrt{1 - \frac{SD_G^2}{SD_{rest}(G)^2}}. \quad (8)$$

Здесь SD_G – стандартное отклонение величин G вокруг среднего значения.

Уравнения (4-8) позволяют сравнить эффективность описания экспериментальных данных по растворению экспоненциальной и Ленгмюровской моделями.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Выбор объектов исследования. Применимость соотношений (1-4) целесообразно проверить для разных диапазонов времени растворения t , степени растворения G и точек растворения n , а также для разных составов и дозировок препаратов и сред растворения. Удобными объектами для этого являются различные технологические прописи таблеток левотиноксина натрия, полученные при выборе и отработке их состава, который был бы биоэквивалентен оригинальному (см. табл. 1). Как видно из табл. 1, данные объекты удовлетворяют всем этим требованиям.

Аналитическая методика. В качестве аналитической методики при изучении кинетики растворения была использована ВЭЖХ-методика Фармакопеи США для таблеток левотироксина натрия (Тест 3) [9]. Среда растворения (табл. 1) и количество исследованных таблеток (12) каждого образца были выбраны в соответствии с требованиями ГФУ [1, п. 6.2.3].

Результаты. Кинетические кривые $G(t)$ зависимости степени растворения $G\%$ от времени

t (мин) представлены в табл. 2. В данной таблице приведены также абсолютные стандартные отклонения SD_i (в абсолютных процентах) степени растворения G для каждой точки (из 12 таблеток), что позволяет оценить статистическую корректность экспериментально полученных величин G .

Кроме того, для каждой кривой из величин SD_i рассчитаны также объединенные стандартные отклонения SD_{pool} по соотношению (7):

Таблица 1

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

№ состава	Доза левотироксина натрия в одной таблетке, мкг	pH среды растворения	Диапазон времени растворения t мин	Диапазон степени растворения G %	Число точек кривой растворения, n
1	25	1,2	15-60	57,7-86,8	4
2	25	0.01 M HCl	15-60	99,6-104,8	4
3	25	4,5	300-480	55,2-67,6	4
4	25	1,2	15-120	50,6-83,8	5
5	25	6,8	15-120	42,9-70,9	5
6	150	6,8	15-120	45,9-80,5	5
7	25	6,8	15-90	41,2-67,5	6
8	150	1,2	15-90	49,8-84,2	6
9	25	4,5	15-120	31,3-56,9	7
10	150	4,5	15-480	27,6-72,9	11

Таблица 2

КИНЕТИКА РАСТВОРЕНИЯ РАЗНЫХ ПРОПИСЕЙ ТАБЛЕТОК ЛЕВОТИРОКСИНА (SD – СТАНДАРТНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ ИЗ 12 ТАБЛЕТОК)

№ состава	Степень растворения G % для времени t (минуты)													SD _{pool}	
	t →	15	30	45	60	75	90	120	180	240	300	360	420		480
1	51.7	69.9	82.1	86.8											
SD	5.9	5.0	4.0	4.2											9.6
2	99.6	100.9	104.0	104.8											
SD	3.0	1.6	1.5	0.7											2.7
3											55.2	62.5	65.2	67.6	
SD											3.5	2.2	1.4	1.2	2.6
4	50.6	71.6		80.6		81.7	83.8								
SD	1.9	1.8		3.5		2.0	3.1								2.8
5	42.9	58.5		66.9		70.1	70.9								
SD	3.0	2.5		2.4		1.9	1.9								2.3
6	45.9	61.5		72.3		75.2	80.5								
SD	3.4	1.9		1.3		1.8	1.6								1.9
7	41.2	52.3	58.3	64.2	66.4	67.5									
SD	3.4	2.2	2.7	2.4	3.9	3.5									2.8
8	49.8	65.6	73.6	77.9	82.7	84.2									
SD	5.6	4.0	2.2	1.9	3.2	2.0									3.0
9	31.3	41.7	47.7	50.6	51.9	53.9	56.9								
SD	4.1	3.1	2.3	1.9	1.4	1.5	1.1								2.1
10	27.6	43.7		55.9		62.3	64.9	69.5	69.7	70.2	71.6	72.2	73.0		
SD	2.1	1.9		0.6		2.5	1.7	1.2	1.9	1.1	1.7	1.7	1.8		1.8

$$SD_{pool} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^g v_i \cdot SD_i^2}{\sum_{i=1}^g v_i}} \quad (9)$$

Здесь v_i – число степеней свободы, которое в случае величин SD_i равно $v = g - 1 = 12 - 1 = 11$ для всех составов. В случае же объединения остаточных стандартных отклонений SD_{rest} разных составов число степеней свободы разное для разных составов и равно $v_i = n_i - 2$, где n – число точек кривой растворения.

Величины SD_{pool} позволяют оценить статистическую корректность использованных моделей растворения (Ленгмюровской и экспоненциальной), поэтому они представлены также в табл. 3-4. Средние значения по всем составам, рассчитанные по соотношению (9), представлены в табл. 3-4 также для SD_{pool} и SD_{rest} . Кроме того, даны средние по всем составам значения коэффициентов корреляции $R(G)$.

В табл. 3 представлены результаты обработки экспериментальных данных по линеаризованной Ленгмюровской модели (3). Типичная прямая (3) представлена на рис. 1.

Таблица 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ОБРАБОТКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ ПО ЛЕНГМЮРОВСКОЙ МОДЕЛИ МЕТОДОМ НАИМЕНЬШИХ КВАДРАТОВ

№ состава	Параметры прямой $1/G = A + B \cdot (1/t)$						Рассчитанные параметры уравнения $G = G_0 \cdot k \cdot t / (1 + k \cdot t)$						
	A	SD _A	B	SD _B	SD _{rest}	R	G ₀ = 1/A	SD(G ₀)	k=A/B	SD(k)	SD _{rest} (G)	R(G)	SD _{pool}
1	0.0089	0.00020	0.158	0.0050	0.0002	0.999	113.0	0.056	0.056	0.0022	1.1	0.997	4.8
2	0.0094	0.00012	0.0096	0.0039	0.0001	0.911	105.9	0.980	0.980	0.40	1.2	0.863	1.9
3	0.0091	0.00106	2.64	0.39	0.0004	0.978	110.0	0.003	0.003	0.00065	1.4	0.965	2.3
4	0.0104	0.00048	0.134	0.014	0.0024	0.984	96.1	0.077	0.077	0.0088	3.5	0.967	2.5
5	0.0124	0.00033	0.159	0.0094	0.0005	0.995	80.6	0.078	0.078	0.0051	1.7	0.989	2.3
6	0.0113	0.00017	0.156	0.0048	0.0002	0.999	88.8	0.072	0.072	0.0025	1.2	0.996	2.1
7	0.0130	0.00024	0.172	0.0072	0.0003	0.996	77.0	0.075	0.075	0.0035	1.1	0.994	3.1
8	0.0103	0.00007	0.0148	0.0022	0.0001	1.000	97.4	0.695	0.695	0.10	0.64	0.999	3.4
9	0.0158	0.00011	0.243	0.0037	0.0002	0.999	63.5	0.065	0.065	0.0011	0.50	0.998	2.4
10	0.0127	0.00022	0.341	0.0093	0.0006	0.997	78.8	0.037	0.037	0.0012	1.7	0.993	1.7
Объединенные и средние величины:											1.6	0,976	2.8

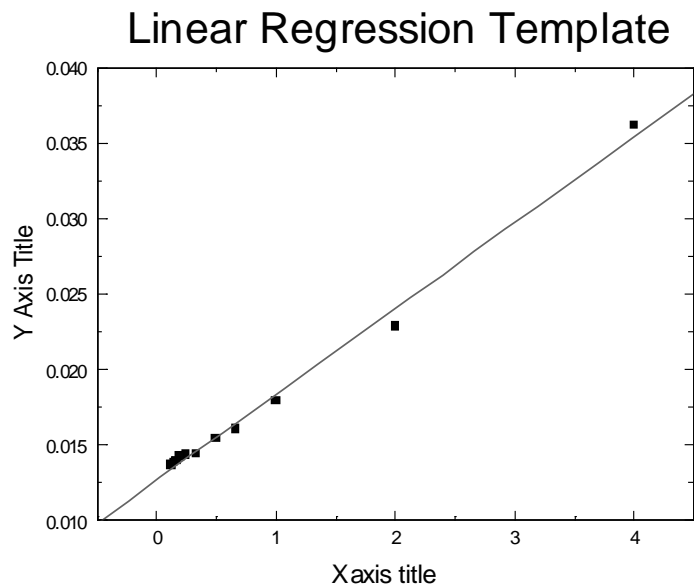


Рис. 1. Типичная линейная регрессия линеаризованной Ленгмюровской модели (3) для таблеток состава № 10.

Поскольку параметры данного уравнения самостоятельной ценности не представляют, то по соотношениям (4-8) были рассчитаны величины G_o , k , $SD(G_o)$, $SD(k)$, $SD_{rest}(G)$ и $R(G)$, и представлены в табл. 3. Это позволяет оценить статистическую корректность выполнения Ленгмюровской модели (2-3) и сравнить ее с экспоненциальной моделью (1).

В табл. 4 представлены результаты расчетов по экспоненциальной модели (1) с помощью нелинейного метода наименьших квадратов (НМНК). Следует отметить, что использование НМНК для экспоненциальной модели при малых степенях свободы (а для 4 точек число степеней свободы равно $4-2 = 2$) имеет определенные трудности, связанные с неустойчивостью расчетов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно требованиям ГФУ [1], стандартные отклонения от среднего значения, в процентах к номинальному содержанию исследуемого вещества в дозированной форме должны быть не более 20 % для первой точки кинетической кривой растворения и не более 10 % для остальных точек контроля. Как видно из табл. 2, данное требование с большим запасом выполняется для всех точек и всех исследованных составов, что говорит о соответствии полученных кинетических кривых требованиям ГФУ.

Из табл. 3 видно, что для Ленгмюровской модели остаточные стандартные отклонения SD_{rest} практически для всех составов значительно меньше SD_{pool} . Особенно наглядно это видно на объединенных значениях – 1,6 % для SD_{rest} , что в 1,8 раза меньше, чем для SD_{pool} (2,8 %). Это свидетельствует о статистической корректности Ленгмюровской модели, поскольку разброс точек вокруг рассчитанной кривой не превы-

шает статистической неопределенности самих индивидуальных величин G . Во всех случаях (разные составы, среды растворения, диапазоны времени и степени растворения) наблюдаются высокие коэффициенты корреляции $R(G)$ (выше 0,965) и низкие остаточные стандартные отклонения $SD_{rest}(G)$ (обычно ниже 1,7 %), что говорит об адекватности описания Ленгмюровской моделью кинетических кривых растворения. Несколько худшее значение коэффициента корреляции (0,863) наблюдается для состава 2. Это связано с малым числом степеней свободы ($4-2 = 2$) и с очень узким интервалом варьирования для него величин G – от 99,6 до 104,8 % (см. табл. 1), что, как следует из выражения (8) для коэффициента корреляции $R(G)$, и приводит к уменьшению $R(G)$.

Все то же самое можно сказать и об экспоненциальной модели (см. табл. 4). Остаточные стандартные отклонения SD_{rest} обычно ниже SD_{pool} , а объединенное значение для SD_{rest} , (2,2 %) что в 1,3 раза меньше, чем для SD_{pool} (2,8 %).

Представляет интерес сравнение Ленгмюровской и экспоненциальной моделей. Для этой цели удобно использовать объединенные по всем составам величины. Как видно из сравнения табл. 3-4, объединенное остаточное стандартное отклонение для Ленгмюровской модели (1,6 %) в 1,3 раза меньше, чем для экспоненциальной модели (2,2 %), а средний коэффициент корреляции (0,976) существенно выше, чем для экспоненциальной модели (0,945). Таким образом, можно сказать, что для описания кинетических кривых растворения при исследовании биоэквивалентности «*in vitro*» предпочтительнее использование более простой Ленгмюровской модели по сравнению с экспоненциальной моделью.

Таблица 4

РЕЗУЛЬТАТЫ ОБРАБОТКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ ПО ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНОЙ МОДЕЛИ (1) С ПОМОЩЬЮ НЕЛИНЕЙНОГО МЕТОДА НАИМЕНЬШИХ КВАДРАТОВ

№ объекта	G_o	SDG_o	k	SDk	SD_{rest}	R	SD_{pool}
1	89.4	2.4	0.055	0.005	2.0	0.992	4.8
2	103.4	1.2	0.22	0.04	2.0	0.601	1.9
3	80.0	4.5	0.0041	0.0006	1.2	0.974	2.3
4	82.9	0.6	0.064	0.002	1.0	0.997	2.5
5	70.0	0.7	0.062	0.003	1.1	0.996	2.3
6	77.1	1.9	0.056	0.005	2.9	0.978	2.1
7	66.3	1.7	0.057	0.006	2.5	0.968	3.1
8	82.5	1.7	0.056	0.005	2.6	0.980	3.4
9	54.3	1.1	0.051	0.004	1.9	0.977	2.4
10	70.2	0.9	1.77	0.12	2.4	0.986	1.7
Объединенные и средние значения:					2.2	0.945	2.8

ВЫВОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для описания профилей растворения при исследовании биоэквивалентности *in vitro* предложено использовать двухпараметрические экспоненциальную и Ленгмюровскую модели. Показано адекватность описания ими экспериментальных кривых растворения для разных составов экспериментальных прописей таблеток левотироксина, сред растворения, диапазонов времени и степени растворения. Показано, что простая Ленгмюровская модель дает лучшие результаты, чем экспоненциальная, и может быть рекомендована при отработке состава таблеток в рамках исследования их на биоэквивалентность.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Державна фармакопія України 5.N.2. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності генеричних лікарських засобів / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 2. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – С. 231-254.
2. Державна фармакопія України 2.9.3. Тест «Розчинення» для твердих дозованих форм / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: Рірег, 2001. – С. 153-157. – Доп. 1. – 2004. – С. 66-70. – Доп. 2. – 2008. – С. 134-143.
3. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України – Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – С. 187-214.
4. Зависимость растворимости фенсукцинала от размера частиц. / А. И. Гризодуб, И. Г. Губаревич, Л. Е. Никишина, [и др.] – Фармаком. – 2008. – № 1. – С. 50-67.
5. Стандартизация метода высвобождения *in vitro* биологически активных веществ из суппозиторий и мазей / А. И. Гризодуб, Н. Г. Козлова, Л. И. Драник, [и др.]. // Фармаком. – 1994. – № 12. – С. 4-20.
6. Стандартизація методу вивільнення *in vitro* лікарських субстанцій з супозиторіїв та мазей. 1. Математичне описання експериментальної кривої вивільнення / О. І. Гризодуб, Н. Г. Козлова, Л. І. Драник, [та ін.] // Вісник фармації. – 1995. – № 3-4. – С. 14-19.
7. Залежність ступеня вивільнення від товщини шару препарату./ О. І. Гризодуб, Н. Г. Козлова, Л. І. Драник, [та ін.] // Вісник фармації. – 1995. – № 3-4. – С. 20-23.
8. Стандартизація методу вивільнення *in vitro* лікарських субстанцій з супозиторіїв та мазей. 3. Стандартизована методика проведення вивільнення речовин / О. І. Гризодуб, Н. Г. Козлова, Л. І. Драник, [та ін.] // Вісник фармації. – 1997. – № 1 (15). – С. 6-8.
9. Levothyroxine sodium tablets. USP 33 NF 28. CDROM version. Official from February 1, 2011.

УДК 615.074.66.061.16

М. І. Борщевська, О. І. Гризодуб, О. С. Ремез, Г. І. Борщевський
ОПИС ПРОФІЛІВ РОЗЧИНЕННЯ В РАМКАХ ДОСЛІДЖЕННЯ
БІОЕКВІВАЛЕНТНОСТІ «IN VITRO»

Для опису профілів кривих розчинення при дослідженні біоеквівалентності «in vitro» запропоновано використовувати експоненціальну і Ленгмюровську моделі. Показано адекватність опису ними експериментальних кривих розчинення для різних складів експериментальних прописів таблеток левотироксину, різних середовищ розчинення, діапазонів часу і ступеню розчинення. Показано, що проста Ленгмюровська модель дає кращі результати, ніж експоненціальна.

Ключові слова: кінетика розчинення, біоеквівалентність, *in vitro*, математичний опис, левотироксин.

UDC 615.074.66.061.16

М. І. Borshchevska, O. I. Gryzodub, O. S. Remez, G. I. Borshchevskiy
DESCRIPTION OF DISSOLUTION PROFILES IN BIOEQUIVALENCE «IN VITRO» STUDIES

For description of dissolution profiles in bioequivalence «in vitro» studies it is suggested to use two-parametric exponential and Langmur models. It is demonstrated adequacy of these models description of experimental dissolution curves for different sample compositions of levothyroxine tablets, different dissolution media and different ranges of time and degree of dissolution. It is showed that the simple Langmur model gives the better results than exponential one.

Key words: kinetic dissolution curves, bioequivalence, *in vitro*, mathematical description, levothyroxine.

Адреса для листування:

61085, м. Харків, вул. Астрономічна 33,
ДП Український науковий фармакопейний
центр якості лікарських засобів
Тел. +380 (57) 719-06-05,
+380 (57) 719-06-07

Надійшла до редакції:
27.08.2013