

## РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ИСПЫТАНИЯ «РАСТВОРЕНИЕ» ДЛЯ ТАБЛЕТОК НОВОГО ОРИГИНАЛЬНОГО АНКСИОЛИТИКА ГМЛ-1

*Л. М. Гаевая, Л. Н. Грушевская, М. С. Сергеева, А. А. Илларионов, Е. Д. Денисенко, Н. И. Авдюнина, Б. М. Пятин, В. И. Прокофьева, Д. В. Юдина*

*НИИ фармакологии им. В. В. Закусова, г. Москва*

Разработана методика определения показателя «Растворение» таблеток ГМЛ-1. Проведена валидация разработанной методики по основным валидационным характеристикам. Результаты валидационных исследований подтвердили пригодность методики для оценки качества таблеток ГМЛ-1.

*Ключевые слова:* ГМЛ-1, таблетки, УФ-спектрофотометрия, «Растворение», валидация.

DOI 10.19163/1994-9480-2017-3(63)-29-32

## DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE TECHNIQUE FOR A «DISSOLUTION TEST» FOR GML-1, NEW ORIGINAL ANXIOLYTIC TABLETS

*L. M. Gaevaya, L. N. Grushevskaya, M. S. Sergeeva, A. A. Illarionov, E. N. Denisenko, N. I. Avdyunina, B. M. Pyatin, V. I. Prokofeva, D. V. Yudina*

*V. V. Zakusov Scientific Research Institute of Pharmacology, Moscow*

The technique for a «dissolution test» for the tablets of GML-1 has been developed. The developed technique has been validated according to the main validation characteristics. The results of the validation have confirmed the applicability of the technique for assessing the quality of GML-1 tablets.

*Key words:* GML-1, tablets, UV-spectrophotometry, «Dissolution», validation.

**ГМЛ-1** – (I), N-бензил-N-метил-1-фенилпиррол [1,2-а] пиазин-3-карбоксамид – новое оригинальное соединение, синтезированное в ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В. В. Закусова», обладающее выраженной анксиолитической активностью [1, 2, 3]. Было установлено, что I проявляет антидепрессивный и ноотропный эффекты [4].

В лаборатории готовых лекарственных форм опытно-технологического отдела ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова» была разработана твердая дозированная лекарственная форма I – таблетки дозировкой 1 мг. Необходимым условием внедрения новых лекарственных средств в медицинскую практику является разработка методик контроля качества и установление экспериментально обоснованных норм качества. Для всех твердых дозированных лекарственных форм (таблетки, капсулы, драже) испытание «Растворение» – это один из важнейших критериев качества, подтверждающий постоянство свойств и надлежащих условий производственного процесса лекарственного препарата.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработать методику проведения испытания «Растворение» для таблеток I и провести ее валидацию.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на серийных образцах таблеток I дозировкой 1 мг. Разработку методики определения показателя «Растворение» проводили по унифицированной методике [5] на приборе типа «Лопастная мешалка» (Pharma Test DT 70, «Vitec, Германия). Определение степени высвобождения I из лекарственной

формы в среду растворения определяли с помощью метода УФ-спектрофотометрии на спектрофотометре UV-1700 («Shimadzu», Япония). Валидность разработанной методики устанавливали в соответствии с требованиями ОФС «Валидация аналитических методик» [6].

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение условий проведения испытания «Растворение» для таблеток I осложнялось тем, что субстанция I практически не растворима в воде и в растворе 0,1 М хлористоводородной кислоты. В этом случае возможно использование водных растворов с добавлением поверхностно-активных веществ [5], например, натрия додецилсульфата (NaDS). Поскольку всасывание и выведение плохорастворимых лекарственных веществ из организма сопровождается сольubilизацией желчными кислотами, являющимися анионноактивными ПАВ, добавление NaDS в среду высвобождения при разработке испытания «Растворение» является наиболее рациональным. Диапазон концентраций растворов NaDS в средах растворения, согласно FDA, составляет от 0,025 до 3 % [7]. Нами была изучена растворимость I в растворах NaDS с концентрацией от 1 до 3 %. В растворах с содержанием NaDS 1 и 2%-я субстанция I не растворялась. Растворимость субстанции в 3%-м растворе NaDS составила около 1:4000. Поэтому в качестве среды растворения был выбран 3%-й раствор NaDS, объем среды – 900 мл, температура среды растворения – (37 ± 0,5) °С, скорость вращения лопастей мешалки 50 об./мин.

Количественную оценку степени высвобождения I из таблеток проводили с помощью метода УФ-спектрофотометрии при длине волны ( $256 \pm 2$ ) нм, при которой наблюдался наиболее выраженный максимум поглощения (рис. 1). При этой длине волны раствор плацебо практически не поглощал электромагнитного излучения и не мешал количественному определению I (рис. 2).

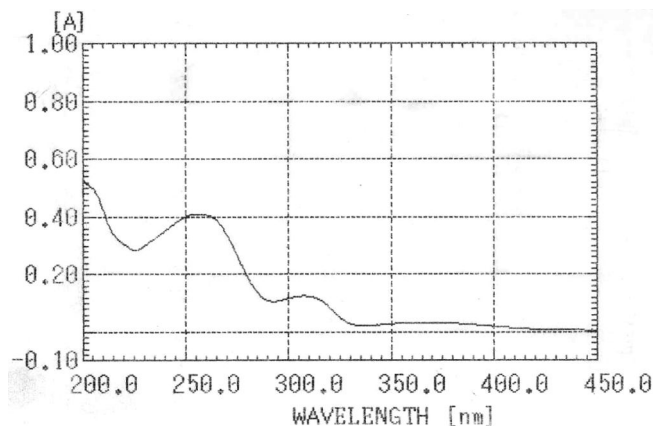


Рис. 1. УФ-спектр I в 3%-м растворе NaDS. Концентрация I в растворе – около 0,005 мг/мл

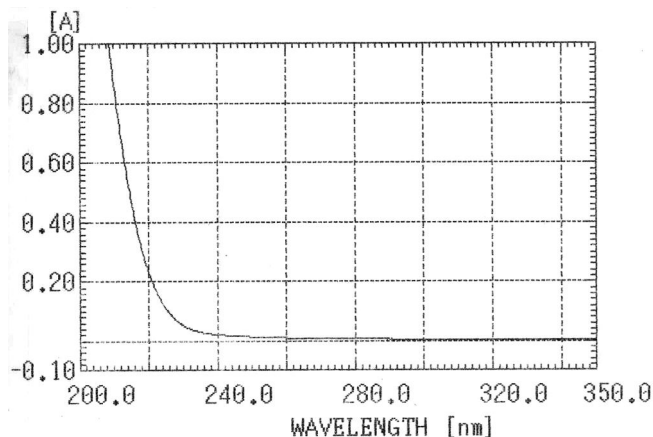


Рис. 2. УФ-спектр извлечения из плацебо

Оценку пригодности разработанной методики для аналитических целей проводили посредством процедуры валидации по таким параметрам, как линейность, правильность, прецизионность (сходимость) результатов анализа [6].

Линейная зависимость оптической плотности от концентрации I была подтверждена на модельных смесях I и плацебо (извлечения в 3%-м растворе NaDS) в интервале от 0,002 до 0,006 мг/мл, коэффициент корреляции ( $r$ ) составил 0,9995 (рис. 3). В качестве рабочей была выбрана концентрация 0,005 мг/мл.

Для проверки прецизионности (сходимости) и правильности методики количественной оценки степени высвобождения I были приготовлены модельные смеси субстанции I и плацебо с содержанием действующего вещества в количестве от 50 до 120 % от номинального содержания I в таблетке и проанализированы в условиях разрабатываемой методики.

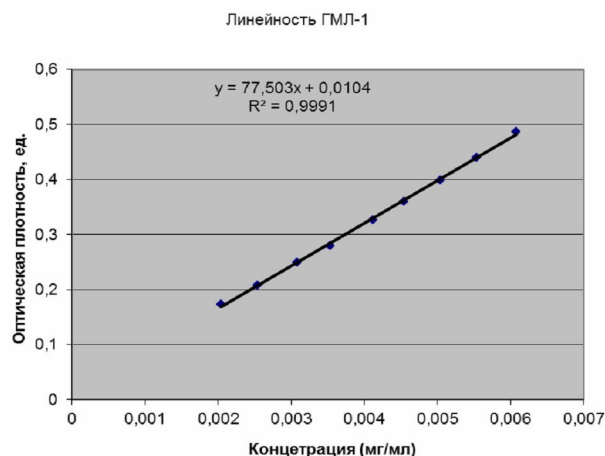


Рис. 3. Зависимость оптической плотности от концентрации испытуемого раствора I

Для приготовления растворов модельных смесей по 0,01–0,03 г субстанции I и 0,05 г плацебо (точные навески) помещали в мерные колбы вместимостью 50 мл, прибавляли 30 мл этанола, помещали на ультразвуковую ванну на 20 мин, далее доводили объем содержимого колбы этанолом до метки, перемешивали и фильтровали через нейлоновый мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объем раствора в колбе до метки 3%-м раствором NaDS.

Параллельно готовили раствор РС0: около 0,05 г (точная навеска) субстанции I помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в достаточном количестве этанола, доводили объем раствора в колбе до метки тем же растворителем и перемешивали. 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем раствора в колбе до метки 3%-м раствором NaDS и перемешивали (концентрация раствора РС0 около 0,005 мг/мл).

Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре при длине волны 256 нм в кювете с толщиной стенки 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 3%-й раствор NaDS. Результаты оценки правильности и сходимости методики представлены в табл. 1.

Как видно из таблицы 1, в исследуемом диапазоне методики результаты анализа не отягощены систематической ошибкой ( $t_{\text{выч.}} < t_{\text{табл.}}$ ), относительная ошибка разработанной методики не превышает 2 %. Методика отличается хорошей сходимостью результатов, о чем свидетельствует низкий коэффициент вариации ( $RSD = 2,01$ ).

С помощью разработанной методики была изучена кинетика высвобождения действующего вещества I из таблеток (рис. 3). Поскольку содержание I в одной таблетке составляет всего 1 мг, его концентрация в среде растворения при условии 100 % высвобождения составит около 0,001 мг/мл, что соответствует оптической плотности менее 0,1. При таких значениях оптической плотности инструментальная погрешность спектрофотометра

**Результаты количественного определения ГМЛ-1 в модельных смесях с плацебо в среде 3%-го NaDS**

Взято ГМЛ-1, г (m <sub>1</sub> )	Найдено ГМЛ-1, г (m <sub>2</sub> )	Абсолютная ошибка, г (d = m <sub>1</sub> – m <sub>2</sub> )	Относительная ошибка, % X = (d x100/m <sub>1</sub> )	Найдено ГМЛ-1 (в % от m <sub>1</sub> )	Метрологические характеристики (P = 95 %, n = 9)
0,01	0,0102	+0,0005	4,9	104,4	$\bar{X} = 99,72$ $S = 2,05$ $S_{\bar{X}} = 0,68$ $\Delta\bar{X} = 1,60$ $\bar{\epsilon} = 1,60 \%$ RSD = 2,01 $t_{\text{выч.}} = 0,41$ $t_{\text{табл.}} = 2,36$
0,0125	0,0127	+0,0002	1,50	101,5	
0,015	0,0154	0	0	100,0	
0,0175	0,0176	-0,0002	1,13	98,86	
0,02	0,0206	-0,0003	1,45	98,54	
0,0225	0,0227	-0,0004	1,76	98,24	
0,0275	0,0277	-0,0004	1,44	98,56	
0,025	0,0252	-0,0005	1,98	98,02	
0,03	0,0304	-0,0002	0,65	99,34	

будет вносить значительный вклад в результат количественного определения (рекомендованный ГФ РФ 13 издания рабочий диапазон составляет от 0,2 до 0,9). Поэтому при изучении зависимости степени высвобождения I из таблеток от времени анализа в один сосуд для растворения помещали пять таблеток I. Концентрация I при 100 % высвобождении составляла около 0,005 мг/мл.

Приготовление испытуемых растворов проводили следующим образом: в определенные временные интервалы из сосудов для растворения отбирали по 10 мл раствора и фильтровали через нейлоновый мембранный фильтр «Millipore» с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. В качестве испытуемого раствора использовали полученный фильтрат. Приготовление раствора РСО проводили по описанной выше методике.

Изначально пробы отбирали через 5, 10, 20, 30 и 45 мин, однако было показано, что уже через 10 мин в среду растворения высвобождается более 90 % I, поэтому был проведен дополнительный эксперимент с временным интервалом отбора проб через 1, 2, 4, 5, 10, 20 и 30 мин испытания (рис. 4).

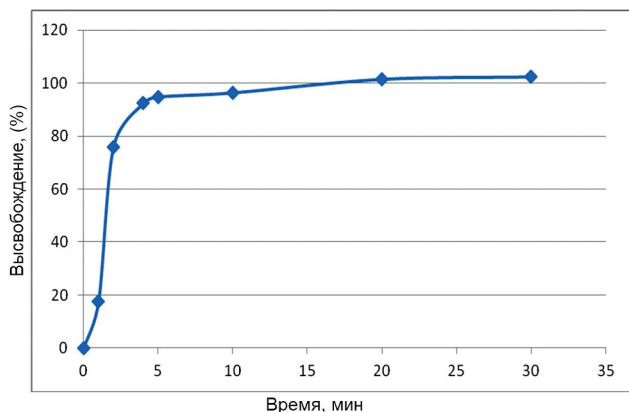


Рис. 4. Зависимость степени высвобождения (%) I из таблеток от времени испытания

Как видно на рисунке, уже через 2 мин высвобождение I из таблеток составило около 75 %. В качестве контрольной точки была выбрана точка 10 мин.

По описанной выше методике были проведены испытания серийных образцов таблеток I. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Результаты определения теста «Растворение» таблеток I**

Номер серии	Серия 160816	Серия 170816	Серия 180816
Результат, %	98,52	95,27	90,55

Таким образом, из всех серийных образцов таблеток за 10 мин испытания высвобождалось более 90 % I.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований была разработана методика определения показателя «Растворение» таблеток I. Показано, что уже через 10 мин в среду растворения высвобождается более 90 % действующего вещества.

Процедура валидации показала, что разработанная методика является правильной и прецизионной, следовательно, пригодной для аналитических целей. Она может быть рекомендована для оценки качества таблеток нового оригинального анксиолитика I.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ярко С.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А. и др. // Эксперим. и клин. фармакол. – 2016. – Т. 79, № 1. – С. 7–11.
2. Середенин С.Б., Мокров Г.В., Гудашева Т.А. и др. 1-Арилпирроло [1,2-а]пиазин-3-карбоксамиды с нейрорепрессивной активностью. Патент РФ №2572076 (2014 г.). Дата приоритета: 26.03.2014.
3. Mokrov S. V., O. A. Deeva, T. A. Gudashева and other. // Bioorg. Med. Chem. – 2015. – V. 23, № 13. – P. 3368–3378.
4. Ярко М.А., Поварнина П.Ю., Г. Мокров и др. // Эксперим. и клин. фармакол. – 2017. – Т. 80, № 4. – С. 3–7.
5. ОФС.1.4.2.0014.15 Растворение для твердых лекарственных форм // ГФ XIII. – Т. 2. – С. 225.
6. ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик // ГФ XIII. – Т. 1, С. 222.
7. Малащенко Е.А. // Научно-производственный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств». – 2013, № 3(4). – С. 76–79

## REFERENCES

1. Jarkov S.A., Mokrov G.V., Gudasheva T.A. i dr. Jeksperim. i klin. farmakol. 2016. T. 79, no1. S. 7-11.
2. Seredenin S.B., Mokrov G.V., Gudasheva T.A. i dr. 1-Arilpirrolo [1,2-a]pirazin-3-karboksamidy s nejropsihotropnoj aktivnost'ju. Patent RF №2572076 (2014 g.). Data prioriteta: 26.03.2014.
3. Mokrov C.V., O.A. Deeva, T.A. Gudasheva and other. Bioorg. Med. Chem. 2015. V. 23, no13. P. 3368-3378.
4. Jarkova M.A., Povarnina P.Ju., G. Mokrov i dr. Jeksperim. i klin. farmakol. 2017. T. 80, no4. S. 3-7.
5. OFS.1.4.2.0014.15 Rastvorenje dlja tverdyh lekarstvennyh form GF XIII. T. 2. S. 225.
6. OFS.1.1.0012.15 Validacija analiticheskih metodik GF XIII. T. 1, S. 222.
7. Malashenko E.A. Nauchno-proizvodstvennyj zhurnal «Razrabotka i registracija lekarstvennyh sredstv». 2013, no 3(4). S. 76-79.

---

## Контактная информация

**Гаевая Людмила Михайловна** – вед. н. с. ОТО ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова, г. Москва, e-mail: otopharm@mail.ru