



Высокопроизводительный робот для исследования солюбилизаторов

K. Kolter, D. Djuric, A.-K. Marguerre, U. Troppmann, Ch. Holtze, E. Wagner, M. G. Herting

Резюме

В целях сокращения времени разработки составов и технологий производства препаратов с плохо растворимыми активными субстанциями, а также исследования солюбилизаторов был создан робот для высокопроизводительного скрининга (HTS). Полученные данные сравнивали с результатами экспериментов, проведенных вручную. Робот зарекомендовал себя как эффективный инструмент для проведения скрининга солюбилизаторов.

Вступление

Ученые в области фармацевтических наук все чаще сталкиваются с проблемой разработки составов и технологий производства лекарственных средств, содержащих плохо растворимые активные фармацевтические ингредиенты (АФИ). Эта тенденция усугубляется тем, что новые АФИ все чаще являются липофильными и комплексными молекулами, поэтому комбинаторная химия и фармакологический HTS стали стандартными методами в отрасли. Вследствие таких физико-химических характеристик, как плохая растворимость в воде или низкая проницаемость, большое количество новых химических соединений имеют низкую биодоступность, в результате чего их отбраковывают уже на стадии разработки. Именно поэтому ученые во всем мире пытаются решить проблему биодоступности путем разработки новых подходов

для использования в технологии создания лекарственных средств.

Одним из особо привлекательных путей улучшения «биофармацевтической пригодности» является повышение предела растворимости АФИ. Однако до настоящего времени ученые не могут до конца связать структуру АФИ и солюбилизирующую активность вспомогательных веществ, поэтому в фармацевтической отрасли солюбилизирующий эффект часто проверяют с помощью метода «проб и ошибок». При осуществлении стандартного скрининга это удлиняет процесс разработки и, как следствие, повышает ее стоимость. Время, необходимое для этих экспериментов, может быть значительно уменьшено путем использования HTS, который обеспечивает абсолютно воспроизводимый и хорошо документированный скрининг потенциала растворения АФИ разными солюбилизаторами.

Цель данного исследования – настройка HTS-робота для скрининга растворимости плохо растворимых АФИ. В качестве опытного АФИ использовали карбамазепин (carbamazepine), в отношении которого тестировали способность разных солюбилизаторов. В силу своей автоматизации, миниатюризации и параллельного тестирования тщательность пробоподготовки, осуществленная роботом, имеет определенные преимущества, которые можно использовать для ускорения проектов по разработке, а также одновременного исследования различных определяющих параметров. Для подтверждения вышесказанного полученные результаты сравнивали с данными лабораторных экспериментов, проведенных вручную.

Экспериментальные методы

Подготовка образцов

Многофункциональный HTS-робот и его установочные параметры позволяют осуществлять дозирование как жидких, так и твердых веществ. Растворы солюбилизаторов и порошкообразную субстанцию АФИ помещали в виалы. Для измерения количества АФИ было установлено на уровне 10 мг, а фактически добавленное количество проверяли на весах (x404S DeltaRange, Mettler Toledo, Германия) и данные записывали. 0,5 мл растворы солюбилизаторов в фосфатном буфере с pH 7.0 были приготовлены из водного концентрированного раствора (1 % и 5 %).

На стандартный виалодержатель помещали 1 мл виалы стандартных размеров для повышения эксплуатационной свободы при использовании таких аналитических методов, как УФ-спектроскопия в видимой области или ВЭЖХ.

Определение растворенного карбамазепина

Во избежание выпадения АФИ в осадок HTS-робот осуществлял: инкубацию, фильтрацию, разведение в соотношении 1 : 100 в смеси фосфатный буфер / метанол 1 : 1. Затем 0,1 мл разбавленного образца автоматически анализировали с помощью встроенного УФ-спектрофотометра (DDT3200, Duratec, Германия) при длине волны 286 нм. В случае превышения единицы в максимуме абсорбции автоматически выполнялось соответствующее повторное разведение образца.

Количество растворенного карбамазепина в образцах, приготов-

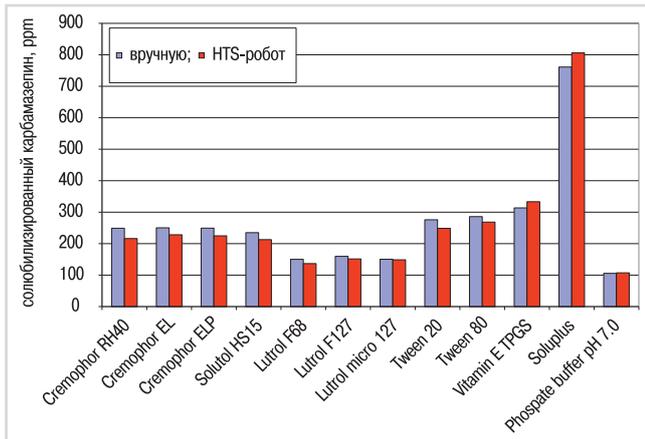


Рис. 1. Сравнение предела растворимости карбамазепина. Результаты получены по данным двух разных методов при концентрации солюбилизатора 1 %

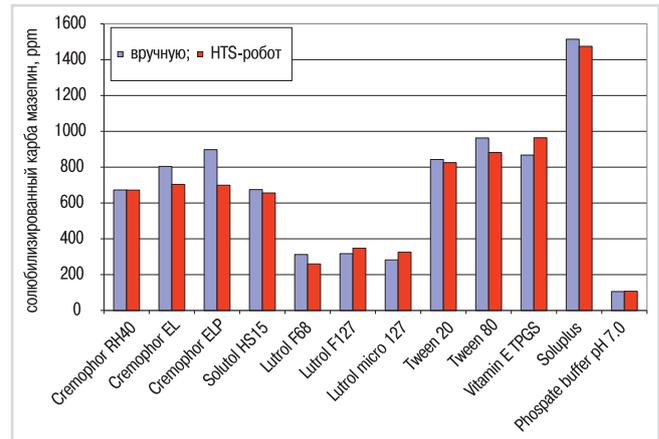


Рис. 2. Сравнение предела растворимости карбамазепина. Результаты получены по данным двух разных методов при концентрации солюбилизатора 5 %

ленных вручную, определяли с использованием диодно-матричного УФ-спектрофотометра Hewlett Packard HP8452A.

Результаты и обсуждение

Использование солюбилизаторов показало повышение предела растворимости карбамазепина во всех испытаниях. Для разных солюбилизаторов в концентрации 1 % полученные значения предела растворимости составили приблизительно от 137 ppm при использовании Lutrol® F68 и до 806 ppm для Soluplus® согласно данным встроенного в HTS-робот УФ-спектрофотометра. Ранжирование способности к солюбилизации не меняется при повышении концентрации солюбилизатора до 5 %. Однако при более высокой концентрации предел растворимости карбамазепина увеличивался для всех изученных в ходе эксперимента солюбилизаторов.

В ходе исследований было установлено, что самым эффективным солюбилизатором для карбамазепина оказался Soluplus®, так как именно он показал наиболее высокий предел растворимости для обеих изученных концентраций. Как и ожидалось, не обнаружена разница в солюбилизующей способности между Cremophor®EL и его более чистым аналогом Cremophor®ELP, так же, как и между Lutrol® и микронизированным Lutrol® micro 127. Таким образом, способность к солюбилизации не

зависит от класса чистоты вспомогательного вещества, а также от размера его частиц.

Результаты изучения солюбилизующей способности солюбилизаторов в концентрации 1 и 5 %, полученные как вручную, так и при помощи HTS-робота, хорошо соотносятся друг с другом (рис. 1, 2).

Результаты исследований подтвердили, что использование HTS-робота для скрининга позволяет сократить время разработок. Длительность скрининга при помощи HTS-робота составила два дня, тогда как эксперименты, выполненные вручную одним аналитиком, заняли в три раза больше времени. С учетом того, что это были первые эксперименты с использованием робота, можно предположить, что в перспективе в ходе оптимизации процесса скорость анализа может быть увеличена, а время разработки – сокращено.

В сравнении с результатами экспериментов, проведенных вручную, дополнительными преимуществами HTS-робота являются высокая воспроизводимость дозирования, а также автоматизированное документирование заданных параметров и результатов исследования. В дальнейшем полученные данные можно оценивать с помощью статистического анализа для установления корреляции и определения взаимосвязи между структурой и свойствами веществ.

Вывод

HTS-робот был успешно применен для быстрого скрининга разных солюбилизаторов карбамазепина, использованного в качестве опытного АФИ. Данные проведенного скрининга были сравнимы с результатами, полученными вручную. Использование HTS-робота позволило собрать большой объем данных и значительно увеличить количество результатов экспериментальных исследований благодаря наличию встроенного программного обеспечения. Поэтому этот подход позволяет уменьшить время разработки. □



Контактная информация:

Представительство «БАСФ» в России и СНГ

РФ, 123317, г. Москва, Пресненская наб., д. 10, блок С, 16-й этаж.
Тел.: +7 (495) 231-71-71, факс: +7 (495) 231-71-08.
zakhar.karpikov@basf.com
www.pharma-ingredients.basf.com
www.basf.ru

Дистрибьютор на территории Украины ООО «ТК Аврора»

Украина, 04112, г. Киев, ул. Дегтяревская, 62
Тел.: +380 (44) 594-87-77, факс: +380 (44) 594-88-77.
sales@tc-aurora.com
www.excipients.com.ua