

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВНЕДРЕНИЯ ПЛЕНОЧНОГО ПОКРЫТИЯ НА ВОДНОЙ ОСНОВЕ ДЛЯ ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ХОЛЕРНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ

Комиссаров А.В.<sup>1</sup>, Еремин С.А.<sup>1</sup>, Задохин С.Н.<sup>1</sup>, Шульгина И.В.<sup>1</sup>, Лобовикова О.А.<sup>1</sup>, Васин Ю.Г.<sup>1</sup>, Клокова О.Д.<sup>1</sup>, Ливанова Л.Ф.<sup>1</sup>, Никифоров А.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия (410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46), e-mail: [microbe@san.ru](mailto:microbe@san.ru)

Показана возможность применения пленочного покрытия на водной основе для готовой лекарственной формы вакцины холерной бивалентной химической таблетированной. В результате проведения полного факторного эксперимента 2<sup>4</sup> определены оптимальные значения таких технологических параметров нанесения покрытия на таблетки, как давление сжатого воздуха, подаваемого на форсунку для распыления и атомизации, расход водного раствора пленочного покрытия, расход и температура воздуха, подаваемого на сушку таблеток, число оборотов барабана. Проверены показатели качества вакцины, при этом показано, что они полностью соответствуют требованиям фармакопейной статьи на препарат. Проведен сравнительный анализ свойств готовой лекарственной формы вакцины с новым покрытием в сравнении с выпущенными ранее производственными сериями. При этом выявлено, что его применение позволило улучшить внешний вид таблетки, увеличить ее твердость и ликвидировать истираемость.

Ключевые слова: вакцина холерная, таблетка, пленочное кишечнорастворимое покрытие, технология.

## EXPERIMENTAL VALIDATION OF IMPLEMENTATION OF THE WATER-BASED FILM COATING FOR FINISHED DOSAGE FORM OF THE CHOLERA CHEMICAL VACCINE

Komissarov A.V.<sup>1</sup>, Eremin S.A.<sup>1</sup>, Zadokhin S.N.<sup>1</sup>, Shulgina I.V.<sup>1</sup>, Lobovikova O.A.<sup>1</sup>, Vasin Y.G.<sup>1</sup>, Klokova O.D.<sup>1</sup>, Livanova L.F.<sup>1</sup>, Nikiforov A.K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Rospotrebnadzor Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia (410005, Saratov, Universitetskaya St., 46), e-mail: [microbe@san.ru](mailto:microbe@san.ru)

Demonstrated is the possibility of implementation of the water-based film coating for the finished dosage form of the tableted cholera chemical bivalent vaccine. In the process of a full factorial experiment 2<sup>4</sup> specified are the optimum values of such technological parameters for tablet coating procedure as stored air pressure conveyed to the jet for spraying and automatization, water solution delivery rate, tablet-drying air flow and temperature, rotating speed of the drum. Tested have been vaccine quality characteristics. Established is the fact that they fully comply with the requirements stated in the pharmacopeial descriptions. Carried out is the comparative analysis of the finished dosage form properties with new coating in reference to earlier manufactured preparation batches. It is determined that application of the modified coating material provides for tablet hardening and elimination of friability, as well as improvements to its external view/appearance.

Keywords: cholera vaccine, tablet, gastro-resistant/enterosoluble film coating, technology.

### Введение

Вакцина холерная бивалентная химическая выпускается в виде таблетки, состоящей из смеси холерогена-анатоксина и O1 антигенов *Vibrio cholerae* O1 классического биовара штаммов 569В Инаба и М-41 Огава и наполнителей. Таблетка представляет собой серовато-желтую компактную массу, покрытую светлой блестящей кислотоустойчивой оболочкой из целлацефата.

Одним из недостатков технологии изготовления таблетки является использование 5%-ного раствора целлацефата в ацетоне для нанесения покрытия. Согласно ГОСТ 2768-84 ацетон является легковоспламеняющейся жидкостью, обладающей наркотическим действием, и

работа с ним требует создания дополнительных условий (герметизация технологических процессов или использование мощного вентиляционного оборудования с целью удаления его паров) для обеспечения безопасного производства работ. Также необходимо отметить, что внешний вид, в частности цвет таблеток вакцины, часто варьирует от серии к серии.

Таким образом, проведение исследований по обоснованию возможности применения новых пленочных покрытий для готовой лекарственной формы холерной вакцины, лишенных вышеописанных недостатков, являются актуальными.

### **Материалы и методы**

Нанесение покрытия на таблетку выполняли в машине барабанного типа (коутере) GMPC I Mini (Glatt, Германия). Определение твердости таблеток проводили с использованием тестера ТВН 125 TD (Erweka, Германия), используя режим работы перемещения измерительного молотка «постоянная скорость» при величине ньютон-фактора, равного 19,0. Количество таблеток каждой серии составляло не менее 10. Испытания на истираемость осуществляли на приборе GTA 120 (Erweka, Германия) при числе качаний флакона в минуту, равном 300, в течение 3 мин. В каждом флаконе находилось по 20 таблеток. Степень истираемости вычислялась по соотношению массы таблеток до и после проведения теста. Взвешивание таблеток проводили на весах Ohaus Pioneer PA-213 (США) с точностью до 0,001 г.

Определение распадаемости и растворимости проводили по методике, описанной в фармакопейной статье предприятия на холерную химическую вакцину. Таблетки в количестве 3 штук помещали во флакон вместимостью 100 мл с 25 мл децимолярного раствора соляной кислоты и выдерживали при температуре  $(37\pm 1)$  °С в течение 3 ч при периодическом встряхивании (3-4 раза через каждые 10 мин). Затем кислоту удаляли, оставляя препарат на дне флакона. Если каждая таблетка вакцины сохраняла форму и оболочку, то распадаемость считали удовлетворительной. На следующем этапе эти же таблетки заливали 25 мл децимолярного раствора натрия гидроксида и выдерживали при температуре  $(37\pm 1)$  °С в течение 1 ч при периодическом встряхивании (3-4 раза через каждые 10 мин). Если таблетки распадались до рыхлой массы, без сохранения оболочки, то растворимость считали удовлетворительной.

### **Результаты и обсуждение**

Устранить указанные выше изъяны технологии нанесения покрытия на таблетки холерной вакцины представлялось возможным при использовании водных систем пленочных покрытий, которые нашли широкое применение в зарубежной фармацевтической промышленности. Проведенный мониторинг российского государственного реестра лекарственных средств показал, что на долю таблеток, покрытых кишечнорастворимой оболочкой на водной основе, приходится не более 10%, при этом подавляющее большинство фармацевтических производителей использует для приготовления оболочки многокомпонентный состав от

разных производителей. Вещества для приготовления кишечнорастворимой оболочки доступны как в виде ряда монокомпонентов, так и в виде уже приготовленных смесей, которые значительно облегчают процесс производства готовых лекарственных форм. Использование готовых смесей снижает риск отклонения качественных характеристик от серии к серии, в том числе устойчивости в кислой среде [2].

Поэтому первым этапом наших исследований являлся подбор готовой многокомпонентной системы покрытия таблеток кишечнорастворимой оболочкой на водной основе, к которым предъявляются следующие требования: состав должен включать вещества, допущенные к приготовлению готовой формы лекарственного средства; возможность проведения процесса покрытия таблеток при температуре, не превышающей 40 °С, так как один из компонентов холерной вакцины (холероген-анатоксин) является термолабильным.

Было выявлено, что российскими производителями готовые системы водного покрытия плёночными кишечнорастворимыми оболочками не выпускаются. За рубежом они производятся фирмами Colorcon (Великобритания), Basf (Германия), Evonik (Германия), HARKÉ Pharma (Германия), Ashland (Швейцария) [2; 4]. Установлено, что плёночные покрытия большинства производителей, за исключением Colorcon, при нанесении требуют повышенных температур (до 80 °С). Colorcon специализируется на изготовлении различного вида плёночных покрытий для фармацевтических препаратов, ряд его продуктов для нанесения плёночного покрытия не требуют повышенных температур проведения процесса. Была выбрана водная система плёночного покрытия Acryl-EZE 93A следующего состава: метакриловой кислоты и этилакрилата сополимер 40%; тальк, диоксид титана, краситель – оксид железа желтый, диоксид кремния коллоидный; натрий двууглекислый, лаурилсульфат натрия. Все вещества, как вспомогательные, описаны в европейской фармакопее. О перспективности данного покрытия говорит тот факт, что разработка технологии водного покрытия плёночными оболочками Acryl-eze таблеток пентоксифиллина, панкреатина, индометацина, диклофенака, эритромицина ОАО «Биосинтез», входящего в число 10 крупнейших фармацевтических предприятий России, в 2012 г. внесена в реестр инновационной продукции, выпускаемой предприятиями Пензенской области [3].

Следующим этапом проведены исследования по выбору скорости вращения барабана коутера. Для этого ядра таблеток в количестве 2,2 кг подвергали перемешиванию при различных скоростях и наблюдали за сохранением их целостности. Было выявлено, что при числе оборотов барабана 6-8 об/мин через 70 мин, 10-12 об/мин – через 45 мин, 14-16 об/мин – через 30 мин наблюдаются повреждения ядер таблеток (сколы, расслоение). Таким образом выявлены максимальные временные интервалы, за которые на ядра таблеток необходимо нанести первоначальный слой покрытия, препятствующий их разрушению.

С целью подбора оптимальных технологических режимов нанесения пленочного покрытия на таблетки был спланирован и реализован полный факторный эксперимент. В качестве основных факторов, влияющих на проведение процесса, были выбраны: расход раствора пленочного покрытия; давление воздуха, подаваемого на форсунку; масса таблеток; расход воздуха, подаваемого в коутер. Неисследуемыми факторами, которые были постоянны во всех вариантах проведения эксперимента, являлись: давление сжатого воздуха, подаваемого на форсунку для атомизации – 1,4 бара; число оборотов барабана – 10-12 об/мин; содержание сухих веществ в водном растворе Acryl-eze (согласно рекомендациям изготовителя использовался 20%-ный раствор). В качестве критерия оптимизации было принято увеличение массы таблеток, при этом раствор пленочного покрытия наносился до максимального теоретического увеличения массы таблеток, равного 8% [5]. Уровни варьирования факторов и матрица планирования полного факторного эксперимента с его результатами представлены в таблицах 1, 2.

Таблица 1 – Уровни варьирования факторов

Наименование факторов	Основной уровень (нулевой)	Интервал варьирования	Верхний уровень (+)	Нижний уровень (-)
Расход подаваемого раствора, мл/мин ( $X_1$ )	8,0	0,3	8,3	7,7
Давление воздуха, подаваемого на форсунку, бар ( $X_2$ )	1,2	0,2	1,4	1,0
Масса таблеток, г ( $X_3$ )	2000	200	2200	1800
Расход воздуха, подаваемого в коутер, м <sup>3</sup> /ч ( $X_4$ )	60	10	70	50

Таблица 2 – План многофакторного эксперимента и его результаты

Номер варианта	Факторы				Увеличение массы таблеток, % (Y)
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	
1	+	+	+	+	7,3
2	-	+	+	+	6,0
3	+	-	+	+	7,3
4	-	-	+	+	7,0
5	+	+	-	+	6,9
6	-	+	-	+	5,6
7	+	-	-	+	7,7
8	-	-	-	+	6,6
9	+	+	+	-	7,7
10	-	+	+	-	6,0
11	+	-	+	-	7,9
12	-	-	+	-	6,6
13	+	+	-	-	7,5
14	-	+	-	-	6,2

Номер варианта	Факторы				Увеличение массы таблеток, % (Y)
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	
15	+	-	-	-	7,5
16	-	-	-	-	7,2

В результате обработки данных проведенного эксперимента было получено следующее уравнение регрессии:

$$Y=6,9375+0,5375X_1-0,2875X_2+0,0375X_3-0,1375X_4+0,1625X_1X_2+0,5375X_1X_3-0,0375X_1X_4+0,0625X_2X_3+0,6875X_2X_4+1,05X_3X_4+0,0125X_1X_2X_3-0,1375X_1X_3X_4-0,0125X_1X_2X_4+0,0375X_2X_3X_4-0,125X_1X_2X_3X_4 \quad (1)$$

Проведенная дальнейшая обработка уравнения (1) при вероятности  $P=95\%$ , показала, что коэффициенты регрессии для факторов  $X_3$ ;  $X_{1,4}$ ;  $X_{1,2,3}$ ;  $X_{1,2,4}$ ;  $X_{2,3,4}$  не являются значимыми и вышеперечисленные факторы можно «отбросить». Таким образом, уравнение (1) можно записать как:

$$Y=6,9375+0,5375X_1-0,2875X_2-0,1375X_4+0,1625X_1X_2+0,5375X_1X_3+0,0625X_2X_3+0,6875X_2X_4+1,05X_3X_4-0,1375X_1X_3X_4-0,125X_1X_2X_3X_4 \quad (2)$$

Для оценки возможности «отбросить» парные и т.д. взаимодействия вычислили по формуле (3) дисперсию неадекватности модели, значение которой было равно 0,1027:

$$S^2_{ад} = \frac{\sum (Y_{расч} - Y_{опр})^2}{N - n - 1}, \quad (3)$$

где  $n$  – число отброшенных парных и т.д. взаимодействий,

$N$  – число вариантов проведенного эксперимента,

$Y_{расч}$  – рассчитанные значения, определенные по формуле (2) без учета парных и т.д. взаимодействий,

$Y_{опр}$  – значения, определенные в ходе проведения эксперимента.

Рассчитанный критерий Фишера, определенный по формуле (4), был равен 3,3587:

$$F_{расч} = \frac{S^2_{ад}}{S^2(y)}, \quad (4)$$

где  $S^2(y) = \frac{1}{N} \sum Y_{опр}^2$ .

Табличный критерий Фишера  $F_m=19,4$  при вероятности  $P=95\%$  равен 19,4 [1]. Так как выполняется условие  $F_{расч} < F_m$ , то можно отбросить парные и т.д. взаимодействия и окончательное уравнение регрессии будет иметь вид:

$$Y=6,9375+0,5375X_1-0,2875X_2-0,1375X_4 \quad (5)$$

Коэффициенты при  $X_1$  и  $X_2$  положительны. Это значит, что с увеличением этих факторов увеличивается значение параметра оптимизации, т.е. увеличивается масса таблеток. Коэффициент при  $X_3$  отрицателен, это означает, что с уменьшением фактора  $X_3$  значение параметра оптимизации будет возрастать, а с увеличением – убывать. Основываясь на том, что близкие к оптимуму значения параметров процесса нанесения покрытия определены в 11 варианте эксперимента (7,9%), было принято решение не проводить дальнейшую их оптимизацию по плану «крутого восхождения». Таким образом, технологические режимы нанесения пленочного покрытия на таблетки, способствующие повышению равномерности распределения материала покрытия по таблеткам, будут следующие: давление сжатого воздуха, подаваемого на форсунку для распыления и атомизации – 1,0 и 1,4 бара соответственно; расход подаваемого раствора Acryl-EZE – 8,2-8,4 мл/мин; число оборотов барабана – 10-12 об/мин; расход и температура воздуха, подаваемого на сушку – 50-55 м<sup>3</sup>/ч и 40-45 °С соответственно (это позволило поддерживать температуру таблеток в пределах 32-34 °С).

Нанесенное покрытие давало прибавку веса до 8%, средняя масса таблетки составила 305,8±0,8 мг, что соответствовало требованиям фармакопейной статьи на препарат. Гладкое и равномерное желтое пленочное покрытие закрывало все кромки таблеток, что существенно улучшило ее внешний вид (рисунок 1).



*a*



*б*

Рисунок 1 – Внешний вид вакцины:  
*a* – с новым покрытием; *б* – с традиционным покрытием

Одними из основных показателей, характеризующих качество таблеток, покрытых кишечнорастворимой оболочкой, является распадаемость и растворимость. Таким образом, следующим этапом исследований было определение этих характеристик.

В результате определения распадаемости было выявлено, что каждая таблетка вакцины сохраняла форму и оболочку, что соответствовало требованиям фармакопейной статьи на препарат.

В результате определения растворимости было установлено, что таблетки распадались до рыхлой массы, без сохранения оболочки, что соответствовало требованиям фармакопейной статьи предприятия на препарат.

Дополнительно исследовали впитываемость таблеткой жидкости, хотя это и не является нормируемым показателем. Для этого таблетки, после проведения теста на распадаемость,

обсушили и взвесили. Масса таблетки в среднем составила  $323,3 \pm 0,5$  мг, что дало прибавку в весе 5,7%. При этом необходимо отметить, что предельное значение данного показателя в практике производства, хотя это и не является нормируемой величиной, составляет  $\leq 10\%$ . Полученные данные свидетельствуют о хорошем качестве кишечнорастворимого покрытия.

Представляло определенный научно-практический интерес исследование динамики процесса впитывания таблеткой раствора соляной кислоты. Полученные данные представлены на рисунке 2, и они свидетельствуют о том, что изменение массы таблеток до величины, превышающей 10%, составило: для таблетки с новым покрытием – 5,5 ч, для таблетки с традиционным покрытием – между 2,0 и 2,5 ч.

Таким образом, распадаемость, растворимость и средняя масса таблетки соответствовали требованиям нормативных документов, что делает возможным применение пленочного покрытия Acryl-EZE в производстве холерной химической вакцины.

Дополнительно к нормируемым показателям были исследованы такие характеристики, как твердость (прочность) и истираемость (таблица 3).

Таблица 3 – Данные по твердости (прочности) и истираемости

Наименование показателя	Таблетка с новым покрытием		Таблетка с традиционным покрытием			
	Ядро таблетки	Таблетка	серия 86	серия 85	серия 84	серия 83
Твердость, Н	83	138	112	70	46	30
Истираемость, %	2,2	0	0,03	0,04	0,08	0,1

Из представленных данных следует, что применение покрытия Acryl-EZE 93A позволило существенно увеличить твердость таблетки и ликвидировать ее истираемость. Необходимо отметить, что данный показатель нормируется Европейской фармакопеей для таблеток без покрытия и составляет величину менее 1,0%.

В результате проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

обоснована возможность применения пленочного покрытия на водной основе для готовой лекарственной формы холерной бивалентной химической вакцины;

определены оптимальные технологические режимы нанесения пленочного покрытия на таблетки;

по проверенным показателям таблетки вакцины соответствовали требованиям нормативной документации.

### Список литературы

1. Адлер Ю.П. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий / Ю.П. Адлер, Е.В. Маркова, Ю.В. Грановский. – М. : Наука, 1971. – 282 с.
2. Могилюк В.В. Пероральные кишечнорастворимые лекарственные формы // Провизор. – 2009. – Вып. 09 : электронный журнал. – URL: [http://www.provisor.com.ua/archive/2009/N06/pk1f\\_069.php?part\\_code=125&art\\_code=7136](http://www.provisor.com.ua/archive/2009/N06/pk1f_069.php?part_code=125&art_code=7136) (дата обращения: 21.06.2013).
3. Реестр инновационной продукции, выпускаемой предприятиями Пензенской области (по основным видам экономической деятельности). - URL: <http://www.inno-terra.ru/reestr> (дата обращения: 11.06.2012).
4. Флисюк Е.В., Карбовская Ю.В., Парипса А.А. Современный рынок вспомогательных веществ для пленочных защитных покрытий // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2012. – № 1. – С. 36-39.
5. Application of a Fully Formulated Aqueous Enteric Coating System on Rabeprazole Sodium Tablets (20 mg). - URL: [http://www.colorcon.com/literature/marketing/mr/Delayed%20Release/Acryl-EZE/English/ads\\_acryleze\\_app\\_full\\_form.pdf](http://www.colorcon.com/literature/marketing/mr/Delayed%20Release/Acryl-EZE/English/ads_acryleze_app_full_form.pdf) (дата обращения: 11.05.2013).

**Рецензенты:**

Карпунина Л.В., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой микробиологии, вирусологии и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», г. Саратов.

Голиков А.Г., д.х.н., доцент, декан фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Саратов.