УДК 615.07:615.281:615.453.6

Л.О. Бобрицька, О.С. Назарова*, Ю.М. Вербова

Національний фармацевтичний університет
**Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»*

ВИВЧЕННЯ КІНЕТИКИ РОЗЧИНЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ З ВАЛАЦИКЛОВІРОМ

Проведено вивчення кінетики розчинення лікарських препаратів в формі таблеток з валацикловіром відповідно до вимог з проведення процедури «біовейвер», згідно рекомендаціям ДФУ і вимогам ВООЗ, з метою оцінки можливості заміни фармакокінетичних досліджень in vivo випробовуваннями in vitro. Встановлено можливість використання рекомендації процедури «біовейвер» для проведення реєстрації генериків з валацикловіром.

Ключові слова: стандартизація; противірусний препарат; таблетки

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Відповідно до сучасної нормативної документації ВООЗ, FDA та МОЗ України для деяких генеричних лікарських засобів дослідження біоеквівалентності *in vivo*, що використовуються для висновку про їх ефективність, безпечність [3] та фармацевтичну еквівалентність, можна замінити вивченням порівняльної кінетики розчинення *in vitro* за процедурою «біовейвер», в основу якої покладена біофармацевтична класифікаційна система (БКС) [4,5]. Активні інгредієнти лікарських засобів, згідно БКС, класифікуються за ступенем проникнення та розчинністю [4,5,11]:

- клас 1: речовини з високою розчинністю і високим ступенем проникнення;
- клас 2: речовини з низькою розчинністю і високим ступенем проникнення;
- клас 3: речовини з високою розчинністю і низьким ступенем проникнення;
- клас 4: речовини з низькою розчинністю і низьким ступенем проникнення.

Для прийняття рішення щодо можливості рекомендації заміни досліджень біоеквівалентності вивченням порівняльної кінетики розчинення необхідно розглянути:

- розчинність і проникність активного інгредієнту;
- профілі розчинення генеричного та референтного препаратів у трьох середовищах розчинення зі значеннями pH 1,2, 4,5 і 6,8;
- інформацію про допоміжні речовини, які входять до складу лікарського засобу;
- можливі ризики для хворих у випадку некоректного рішення про відмову від доказу біоеквівалентності *in vivo* [5].

Герпетична вірусна інфекція на сьогоднішній день залишається однією з найбільш значущих медико-соціальних проблем, що зумовлено високою сприйнятливістю людини до вірусів герпесу. Від 60 до 90% населення земної кулі інфіковано одним або більше представниками сімейства герпес-вірусів [2, 7]. Найбільшого поширення набули віруси простого герпесу 1-го і 2-го типів (ВПГ-1, 2) і вірус вітряної віспи та оперізувального герпесу (ОГ).

Валацікловір являє собою L-валіновий ефір ацикловіру. Він прискорює регрес висипань, знижує тривалість болю (як гострої, так і постгерпетичній невралгії) при оперізувальному герпесі. Його основними властивостями є: висока біодоступність, що перевищує в кілька разів біодоступність ацикловіру, і швидке і майже повне перетворення в організмі в активний ацикловір і валін під дією ферменту валацикловіргідролази. Завдяки високій біодоступністі досягається велика ефективність і скорочення частоти прийому препарату. Фармакокінетика ацикловіру після всмоктування валацикловіру не відрізняється від такого ацикловіру, який добре розподіляється в організмі. Період напіввиведення ацикловіру після прийому валацикловіру становить близько 3 год, висока концентрація, що створюється в плазмі, дозволяє скоротити режим дозування препарату при терапії ОГ до 3 разів на день, у порівнянні з ацикловіром, прийом якого складає до 5 разів на день [6].

© Л.О. Бобрицька, О.С. Назарова, Ю.М. Вербова, 2011

Таким чином, розробка вітчизняного противірусного препарату на основі валацикловіру є актуальною.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Закордонними авторами [9] були проведені дослідження з вивчення вивільнення валацикловіру гідрохлориду з мікрокапсул в фосфатний буферний розчин pH 7,4 з метою вибору оптимального складу та технології їх отримання.

У результаті попередніх робіт [1] була розроблена методика кількісного визначення валацикловіру для проведення тесту «Розчинення» методом абсорбційної спектрофотометрії.

ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Метою нашої роботи було в**ивчення порівняльної кінетики розчинення лікарських препаратів в твердій дозованій лікарській формі (таблетки) з валацикловіром для подальшої оцінки їх** еквівалентності в умовах *in vitro* (процедура «біовейвер»).

ВИКЛАД ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ

Об'єктами дослідження є: препарат-генерик у формі таблеток «Герпевал 500» (вкриті плівковою оболонкою, виробництва ВАТ «Фітофарм», Україна); референтний препарат у формі таблеток «Вальтрекс™» (виробництва фірми «GlaxoSmithKline», Польща).

Ці препарати містять однакову кількість субстанції валацикловіру і подібні допоміжні речовини, тобто є фармацевтично еквівалентними препаратами.

У роботі використовували стандартний зразок (СЗ) валацикловіру (фірми «LIVZON GROUP CHANGZHOU KONY PHARMACEUTICAL CO., LTD», Китай) для приготування розчину порівняння.

Аналітичні дослідження проводили на спектрофотометрі UV-1700 фірми «SHIMADZU» (Японія), на приборі для розчинення твердих дозованих форм «Erweka» (Німеччина).

Вивчення кінетики розчинення проводили відповідно до монографії ДФУ, Доповнення 2 «5.N.2. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності генеричних лікарських засобів» [3], Настанови з дослідження біодоступності та біоеквівалентності [4], методичних рекомендацій [5], а також Керівництва ВООЗ [11] в трьох буферних середовищах: з хлористоводневою кислотою pH 1.2, ацетатному буферному розчині pH 4,5 та фосфатному буферному розчині pH 6,8. Всі буферні розчини готували згідно ДФУ, Доповнення 2, 2.9.3, с. 141. Дегазацію середовищ розчинення проводили шляхом нагрівання до температури (40±2)°С, з наступною фільтрацією під вакуумом крізь мембранний фільтр з розміром пор 45 мкм і інтенсивним перемішуванням під вакуумом протягом 5 хв. Умови проведення тесту «Розчинення»: апарат «Erweka», використовуючи прилад із кошиком; об'єм середовища розчинення — 900 мл; температура середовища розчинення — (37,0±0,5)°С; швидкість обертання кошика — 100 об/хв. Відбір проб проводили через 15, 30 і 45 хв., вручну піпеткою місткістю 10,0 мл, з ділянки посередині між поверхнею середовища розчинення і кошиком на відстані 2 см від стінки ємкості для розчинення. Отримані проби фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 1,0 мл одержаного фільтрату доводили відповідним середовищем розчинення до об'єму 50,0 мл. Для отримання статистично достовірних результатів дослідження проводили на 12 зразках кожного з препаратів.

Еквівалентність кінетики розчинення лікарських препаратів в формі таблеток з валацикловіром оцінювали за значенням фактору подібності (*f*2), який повинен бути ≥ 50:

$$f_2 = 50 \times \log\left\{\left[1 + \left(\frac{1}{n}\right)_{t=1}^{n}\left(R_{(t)} - T_{(t)}\right)^2\right]^{-0,5} \times 100\right\},$$

де:

n — кількість точок контролю;

$R_{(t)}$ — середнє значення кількісного визначення активної субстанції, яке перейшло в розчин в кожній вказаній точці відбору, при дослідженні референтного препарату (в відсотках);

$T_{(t)}$ — середнє значення кількісного визначення активної субстанції, яке перейшло в розчин в кожній вказаній точці відбору, при дослідженні препарату-генерику (в відсотках).

Для кожного інтервалу часу проводили розрахунок стандартного відхилення середнього значення (*SD*), яке має витримувати наступні вимоги: має бути менше 10%, починаючи з другої і до останньої точки контролю; менше 20% для першої часової точки.

Кількісне визначення валацикловіру при проведенні досліджень in vitro проводили методом спектрофотометрії. Оптичну густину випробовуваних розчинів вимірювали за довжини хвилі 253 нм, у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційне відповідне середовище розчинення. Паралельно вимірювали оптичну густину розчину порівняння (СЗ валацикловіру) з концентрацією 12 мкг/мл. Типовий спектр поглинання валацикловіру наведено на рис. 2.

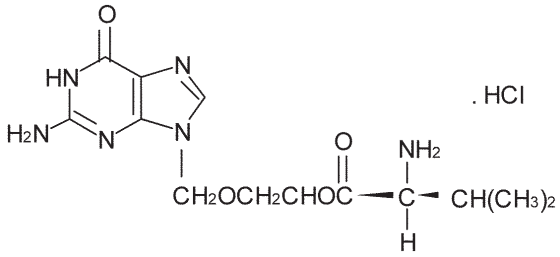

Рис. 1. *Структурна формула валацикловіру гідрохлориду*

Валацикловір є гідрохлоридом L-валін-2 [(2-аміно-1,6-дигідро-6-оксо-9 Н-пурін-9-іл)метоксі] етилового ефіру. Структурна формула валацикловіру гідрохлориду наведена на рис. 1. Максимальна розчинність його у воді при температурі 25 °С складає 174 мг/мл; рКа валацикловіру гідрохлорида — 1.90, 7.47 и 9.43 [8]. Дослідження розчинності проводили для субстанції валацикловіру гідрохлориду фірми «LIVZON GROUP CHANGZHOU KONY PHARMACEUTICAL CO., LTD», Китай, яка використовується ВАТ «Фітофарм» для виготовлення таблеток «Герпевал 500». На підставі проведених досліджень встановлено, що найбільша одноразова доза (2000 мг валацикловіру) розчиняється в менше ніж 250 мл середовища з хлористоводневою кислотою рН 1,2, ацетатного буферного розчину рН 4,5 і фосфатного буферного розчину рН 6,8. Таким чином валацикловіру гідрохлорид можна віднести до лікарських речовин з високою біофармацевтичною розчинністю, тобто до I або III класу БКС [5].

Валацикловір після перорального прийому добре всмоктується і в організмі швидко і практично повністю перетворюється в ацикловір і L-валін. Біодоступність ацикловіру після прийому валацикловіру всередину в 3–5 разів перевищує таку після перорального прийому самого ацикловіру [10]. Ацикловір погано всмоктується, і його біодоступність становить 10–20% [1] залежно від прийнятої дози. Навпаки, після прийому валацикловіру вміст ацикловіру в плазмі крові збільшується практично пропорційно прийнятій дозі, і його біодоступність у дорослих досягає 50% і більше, і не знижується при одночасному прийомі їжі.

На основі проведених досліджень з вивчення розчинності субстанції встановлено, що валацикловір у дозі 500 мг можна віднести до I класу БКС, тобто до речовини з високою біофармацевтичною розчинністю та високим ступенем проникнення. Таким чином можливо проведення порівняльних досліджень *in vitro* для підтвердження еквівалентності лікарських засобів у твердій дозованій формі системної дії.

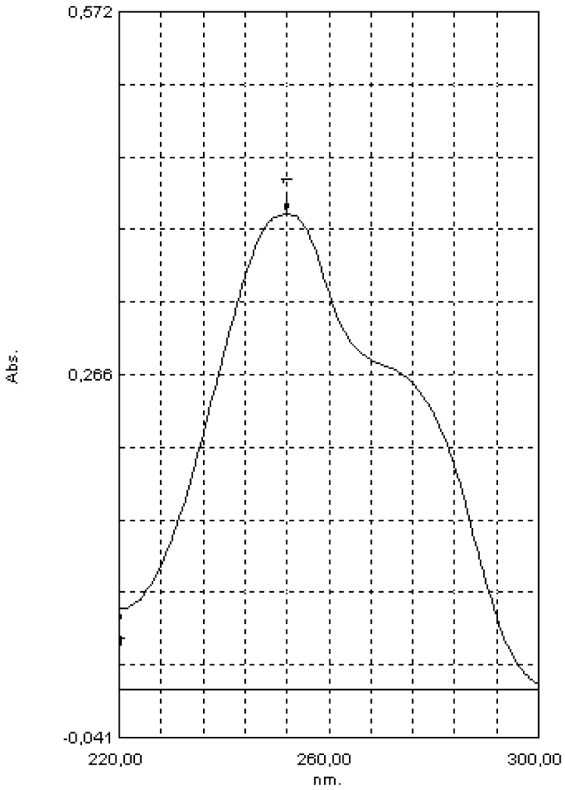

Рис. 2. *Типовий спектр поглинання валацикловіру (12 мкг/мл)*

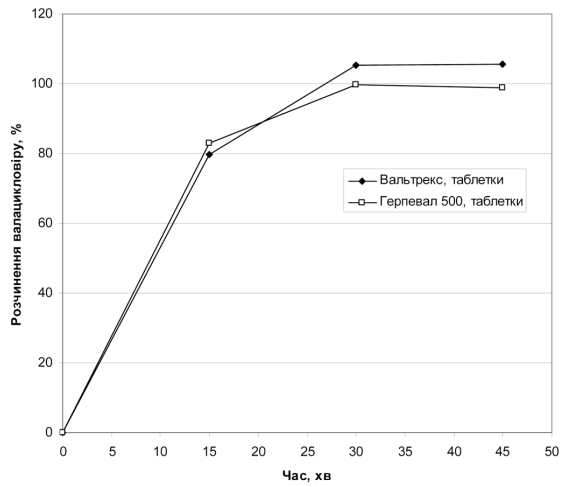

Рис. 3. *Профілі кінетики розчинення препаратів валацикловіру в середовищі з хлористоводневою кислотою рН 1,2 (n = 12)*

Кінетичні криві розчинення валацикловіру для препарату-генерику «Герпевал 500» та референтного препарату «Вальтрекс™» в трьох середовищах розчинення наведені на рис. 3–5. В табл. 1 наведені результати досліджен-

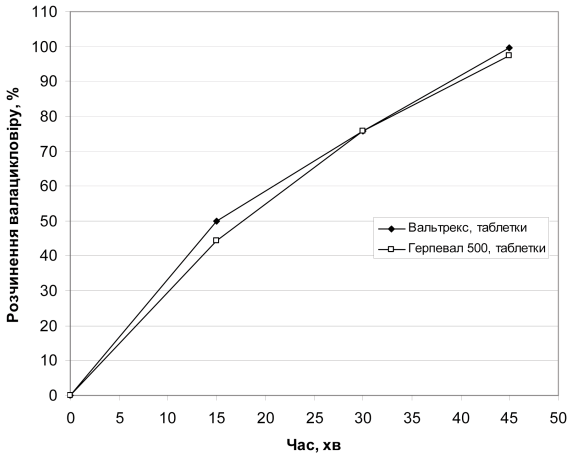

Рис. 4. *Профілі кінетики розчинення препаратів валацикловіру в середовищі ацетатного буферного розчину pH 4,5 (n = 12)*

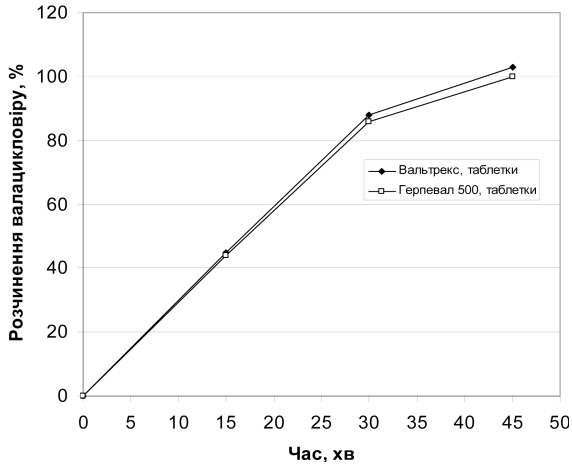

Рис. 5. *Профілі кінетики розчинення препаратів валацикловіру в середовищі фосфатного буферного розчину pH 6,8 (n = 12)*

ня *in vitro* для підтвердження еквівалентності досліджуваних препаратів: значення розчинення валацикловіру в кожній часовій точці та розраховане значення фактору подібності.

На підставі отриманих даних встановлено, що для досліджуваних препаратів спостерігається еквівалентність профілів розчинення для всіх рекомендованих середовищ розчинення (pH 1,2, 4, 5 та 6,8). Ні в одному з середовищ розчинення вивільнення валацикловіру не склало більше 85% через 15 хв., і при цьому спостерігалася залежність швидкості вивільнення від значення pH середовища розчинення: швидкість вивільнення зменшувалася при збільшенні значення pH. Встановлено (табл. 1), що фактор подібності профілів розчинення (f_2), розрахований в кожному з трьох рекомендованих середовищ розчинення, перевищує значення 50, тобто профілі розчинення (кінетичні криві розчинення) препаратів «Герпевал 500» і «Вальтрекс™» подібні.

Таблиця 1

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ *IN VITRO* ДЛЯ ПІДТВЕРДЖЕННЯ ЕКВІВАЛЕНТНОСТІ ПРЕПАРАТІВ «ГЕРПЕВАЛ 500» І «ВАЛЬТРЕКС™»

№ п/п	Час, хв	Розчинення валацикловіру,%	
		«Вальтрекс™», таблетки	«Герпевал 500», таблетки
Середовище з хлористоводневою кислотою pH 1,2			
1	15	79,8	82,9
2	30	105,4	99,7
3	45	105,5	98,8
Фактор подібності f_2		**$f_2 = 63 \geq 50$**	
Ацетатний буферний розчин pH 4,5			
1	15	50,0	44,3
2	30	75,8	75,8
3	45	99,7	97,5
Фактор подібності f_2		**$f_2 = 72 \geq 50$**	
Фосфатний буферний розчин pH 6,8			
1	15	45,3	44,0
2	30	88,2	85,6
3	45	102,5	100,0
Фактор подібності f_2		$f_2 = 81 \geq 50$	

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ РОЗВІДОК

1. Результати вивчення порівняльної кінетики розчинення, статистична обробка та значення фактору подібності доводять еквівалентність профілів розчинення досліджуваних препаратів з валацикловіром «Герпевал 500» та «Вальтрекс™» при pH 1,2, 4,5 і 6,8.
2. Встановлено, що рекомендації використання процедури «біовейвер» для досліджуваних препаратів «Герпевал 500» та «Вальтрекс™» доводять їх еквівалентность.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Бобрицька Л. О. Забезпечення якості фармацевтичної розробки препарату «Герпевал 500» / Л. О. Бобрицька, О. С. Назарова, Ю. М. Вербова // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2011. — № 2 (16). — С. 10–15.
2. Вулф К. Дерматология по Томасу Фицпатрику / Вулф К., Джонсон Р., Сюрмонд Д. — Москва, 2007. — 934 с.
3. Державна фармакопея України. Допов. 2 / Державне підприємство Науково–експертний фармакопейний центр. — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2007. — 617 с.
4. Настанова з клінічних досліджень. Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності. (Настанова 42–7.1:2005). — К.: «Моріон», — 2005. — 22 с. — (МОЗ України).
5. Проведення порівняльних досліджень in vitro для підтвердження еквівалентності лікарських засобів у твердій дозованій формі системної дії. — Методичні рекомендації. — К.: «Моріон», — 2007. — 41 с.
6. Сехин С. В. Новые аспекты применения валацикловира при герпесвирусных инфекциях / С. В. Сехин // Клиническая дерматология и венерология. — 2004. — № 1. — 101 с.
7. Скрипкин Ю. К. Кожные и венерические болезни / Скрипкин Ю. К. — М.: Медицина, 1999. — 451 с.
8. An Efficacy Supplement Describing Suppressive Therapy with Valtrex (valacyclovir hydrochloride) Caplets to Reduce the Frequency of Transmission of Genital Herpes/[Briefing Document for the Antiviral Drugs Advisory Committee]. — GlaxoSmithKline Philadelphia, PA and Research Triangle Park, NC, 2003. — 153 p.
9. Formulation and evaluation of valacyclovir hydrochloride microcapsules/B. Pradeep, M. Nagamadhu, D. Banji [et al.]//Int J Pharm Sci. — 2011. — Vol 3, Suppl 2. — P. 92–96.
10. Pharmacokinetics of the acyclovir prodrug valaciclovir after escalating single- and multiple-dose administration to normal volunteers/S. Weller, M. Blum, M. Doucette [et al.]//Clin. Pharmacol. Ther. — 1993. — Vol. 54. — P. 595–605.
11. WHO EXPERT COMMITTEE ON SPECIFICATIONS FOR PHARMACEUTICAL PREPARATIONS, WHO Technical Report Series 937, Fortieth Report, Geneva. — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_937_eng.pdf — Назва з екрану.

УДК 615.07:615.281:615.453.6

Л. А. Бобрицкая, Е.С Назарова, Ю.М. Вербова

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ С ВАЛАЦИКЛОВИРОМ

Проведено изучение кинетики растворения лекарственных препаратов в форме таблеток с валацикловиром в соответствии с требованиями к проведению процедуры «биовейвер», согласно рекомендациям ГФУ и требованиям ВООЗ, с целью оценки возможности замены фармакокинетических исследований *in vivo* испытаниями *in vitro*. Сделано заключение о возможности использования процедуры «биовейвер» для регистрации генериков валацикловира.

Ключевые слова: стандартизация; противовирусный препарат; таблетки

UDC 615.07:615.281:615.453.6

L. A. Bobritskaya, E. S. Nazarova, J. V. Verbova

THE KINETICS OF DISSOLUTION OF DRUGS WITH VALACYCLOVIR

The study of the dissolution kinetics of drugs in tablet form with valacyclovir in accordance with the requirements for the procedure «bioveyver» according to the recommendations and requirements of State Pharmacopoeia of Ukraine and WHO in order to assess the possibility of replacing pharmacokinetic studies in vivo tests in vitro. The conclusion about the possibility of recommending the use of procedure «bioveyver» for registration of generic valacyclovir.

Key words: pill; antiviral preparation; standardization

Адреса для листування:
61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.
Кафедра управління якістю
Тел: (0572) 67–88–52

Надійшла до редакції:
01.11.2011