

УДК 615.011

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ РАЗЛИЧНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Д.Ю. Гребенкин^{1,2*}, Е.Д. Устинова², С.Ю. Горбачева², А.К. Фаева², В.И. Казей², А.В. Рябова²

Резюме. Исследована кинетика растворения четырёх наименований таблеток пролонгированного действия от различных производителей, а также препарата Депакин® Хроносфера 500 мг в трёх средах – pH 1,2; 4,5; 6,8 (среда контроля качества). В средах pH 4,5 и 6,8 подтверждена эквивалентность профилей растворения таблеток пролонгированного действия, показано более раннее высвобождение АФИ из препарата Депакин® Хроносфера 500 мг. В среде pH 1,2 высвобождение действующего вещества незначительно из-за низкой растворимости кислотной формы молекулы в кислой среде, поэтому данные, полученные с её использованием, не учитывались.

Ключевые слова: вальпроевая кислота, растворение, ВЭЖХ.

DISSOLUTION PROFILE STUDY OF EXTENDED RELEASE VALPROIC ACID DRUG PRODUCTS FROM DIFFERENT MANUFACTURERS

D.Yu. Grebenkin^{1,2*}, E.D. Ustinova², S.Yu. Gorbacheva², A.K. Faeva², V.I. Kazey², A.V. Ryabova²

Abstract. Dissolution profiles of four extended release valproic acid tablets from different manufacturers and granules Depakine® Chronosphere 500 mg were studied in three dissolution media: pH 1.2; 4.5, 6.8 (quality control medium). Dissolution profiles similarity for tablets was approved and more rapid dissolution of Depakine® Chronosphere 500 mg was demonstrated in media pH 4.5, 6.8. API did slightly released in buffer pH 1.2 because of low solubility of valproate in acid form therefore these data were not taken into account.

Keywords: valproic acid, dissolution profile testing, HPLC.

1 – Институт биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

2 – Биоаналитическая лаборатория ООО «Экзакт Лабс», 117246, Россия, г. Москва, Научный проезд, д. 20

1 – Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology Peoples' Friendship University of Russia, 10-2, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

2 – Exacte Labs Bioanalytical laboratory, 20, Nauchnyi proezd, Moscow, 117246, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: gredmitrij93@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Вальпроевая кислота применяется как противосудорожный лекарственный препарат [1], входит в список жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов [2, 3].

Существуют различные лекарственные формы, содержащие в качестве действующего вещества вальпроевую кислоту: таблетки, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, таблетки пролонгированного действия / с пролонгированным высвобождением, гранулы с пролонгированным высвобождением / гранулы пролонгированного действия, капсулы, сироп, растворы для приёма внутрь и растворы для внутривенного введения [1]. Вальпроевая кислота в данных препаратах может находиться как в форме собственно кислоты, так и в форме солей натрия или кальция.

Целью данной работы являлось изучение эквивалентности профилей высвобождения ряда препаратов вальпроевой кислоты с пролонгированным высвобождением различных производителей в лекарственных формах таблетки и гранулы в средах растворения, имитирующих основные отделы ЖКТ с pH 1,2, 4,5, 6,8.

Препараты вальпроевой кислоты имеют узкий терапевтический индекс, то есть терапевтический диапазон, располагающийся между неэффективными и токсическими дозами, для них мал [4, 5]. Кроме того, вальпроевая кислота относится ко II классу БКС, то есть интенсивность высвобождения АФИ из лекарственной формы в высокой степени определяет скорость его поступления в системный кровоток [6]. Данные обстоятельства обостряют проблему взаимозаменяемости в отношении препаратов вальпроевой

кислоты с пролонгированным действием, и СТКР мог бы оказаться весьма информативным инструментом в её оценке.

Согласно Руководству по экспертизе лекарственных средств, том III (2014 г.), исследование кинетики растворения для препаратов с пролонгированным высвобождением, если не указано иное, проводится по тем же принципам, что и для препаратов немедленно высвобождения (среды, аппарат, температура, математическая обработка данных). Отдельные рекомендации касаются выбора временных точек: первая проба (не считая нуля) должна соответствовать диапазону высвобождения 0–20%, последняя – более 85% [7]. В ходе данной работы было принято решение отбирать пробы в двенадцати временных точках (не считая нуля) для наиболее подробного отображения форм профилей высвобождения. Методика эксперимента приводится в разделе «Материалы и методы».

Исследования профиля растворения пролонгированного препарата вальпроевой кислоты Депакин® хроно уже проводились ранее [8]. Однако в упомянутой работе временные точки были ограничены диапазоном от 1 ч до 6 ч в соответствии с требованиями нормативной документации, поэтому изученный профиль описывал уровень высвобождения только от 20% до 60%. В ходе же настоящей работы профиль растворения был изучен в более широком диапазоне, от 30 мин до 18 ч соответственно, на уровне высвобождения от менее 15% до более 85%; кроме того, для более широкого перечня препаратов. Важно подчеркнуть, что результаты настоящей работы в целом подтверждают выводы, опубликованные ранее. Отдельно отметим практически полное совпадение профилей растворения препарата Депакин® хроно, полученных в ранней и настоящей работах, в разных лабораториях, что может послужить лишним свидетельством точности и объективности данных, а также высокого качества препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые препараты

Кинетика растворения изучалась для следующих пяти лекарственных препаратов от соответствующих производителей:

1. Депакин® хроно, таблетки пролонгированного действия, покрытые оболочкой, 500 мг, активное вещество: вальпроат натрия 333 мг, вальпроевая кислота 145 мг.

Произведено: Санофи Винтроп Индустрия, Франция.

2. Энкорат® хроно, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг, активное вещество: вальпроат натрия 333 мг, вальпроевая кислота 145 мг.

Произведено: Сан Фармасьютикал Индастриз Лтд., Индия.

3. Вальпарин® ХР, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг, активное вещество: вальпроат натрия 333 мг, вальпроевая кислота 145 мг.

Произведено: Торрент фармасьютикалс Лтд., Индия.

4. Конвулекс®, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг, активное вещество: натрия вальпроат 500 мг.

Произведено: Герот Фармацойтика ГмбХ, Австрия.

5. Депакин® Хроносфера, Гранулы пролонгированного действия, 500 мг, активное вещество: вальпроат натрия 333 мг, вальпроевая кислота 145 мг.

Произведено: Санофи Винтроп Индустрия, Франция.

В качестве действующих веществ в исследуемых лекарственных препаратах содержится смесь вальпроата натрия и вальпроевой кислоты, кроме лекарственного препарата Конвулекс®, где содержится только натрия вальпроат. Данные фармацевтические субстанции относятся ко II классу биофармацевтической классификационной системы БКС (низкая растворимость, высокая проницаемость), со снижением значения pH водных растворов растворимость субстанции падает [6].

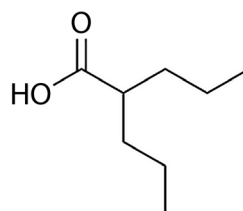


Рисунок 1. Структурная формула вальпроевой кислоты

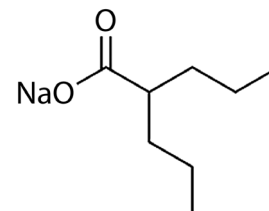


Рисунок 2. Структурная формула вальпроата натрия

Оборудование

- ВЭЖХ система Waters Acquity UPLC с диодным детектором, Waters, США.
- Тестер растворения ERWEKA DT 827/1000, Германия.

Условия изучения кинетики растворения

Сравнительную кинетику растворения исследовали, опираясь на требования Руководства по экспертизе лекарственных средств, том I, 2013 г. [10] и том III, 2014 г. [7] и Методических Указаний Минздрава России «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств», приложение 4, 2008 г. [11]. Описание условий испытания содержалось в проекте



Waters Acquity UPLC

нормативной документации на препарат Депакин® хроно, таблетки пролонгированного действия, 500 мг (Санofi Винтроп Индустрия, Франция), также учитывались рекомендации базы данных методик растворения FDA [12].

Исследование проводили на аппарате «Вращающаяся корзина» при скорости вращения 60 об/мин при температуре $37 \pm 0,5$ °С. Среды растворения: цитратно-фосфатный буферный раствор pH 6,8 (среда контроля качества), ацетатный буферный раствор

pH 4,5, 0,2% раствор натрия хлорида в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты pH 1,2. Объем среды растворения – 600 мл. Временные точки отбора проб: 0 ч, 0,5 ч, 1 ч, 2 ч, 3 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч, 10 ч, 12 ч, 14 ч, 16 ч и 18 ч. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 5 мл среды. Отобранные пробы фильтровали через мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм, сливая первые 3 мл фильтрата. Исследование проводили на 12 единицах каждого лекарственного препарата. Количественное определение высвободившейся вальпроовой кислоты проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детекцией при длине волны 210 нм.

Для препарата Депакин Хроносфера® 500 мг использовали специальные корзинки с микросеткой, для предотвращения выпадения гранул лекарственного препарата из корзинок в процессе анализа.

Приготовление сред растворения

Цитратно-фосфатный буферный раствор pH 6,8±0,05:

4,77 г лимонной кислоты и 55,27 г натрия гидрофосфата помещали в мерную колбу 1000 мл, растворяли 900 мл воды очищенной при перемешивании, довели объем раствора до 1000 мл водой очищенной и перемешивали.

Проверяли pH раствора, при необходимости довели значение pH до значения 6,8 раствором лимонной кислоты или раствором натрия гидроксида.

Раствор хлористоводородной кислоты 0,1 М:

87,3 мл хлористоводородной кислоты концентрированной смешивали водой очищенной, довели до объема 1000 мл и перемешивали. 100 мл этого раствора разбавляли водой очищенной до 1000 мл и перемешивали.

0,2% раствор натрия хлорида в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты pH 1,2±0,05:

В мерную колбу объемом 1000 мл помещали 2,0 г натрия хлорида, растворяли в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, довели до метки и перемешивали. Проверяли pH и при необходимости довели до значения 1,2 раствором хлористоводородной кислоты или раствором натрия гидроксида.

2 М раствор уксусной кислоты:

В мерную колбу объемом 1000 мл вносили 700 мл воды очищенной, прибавляли 116 мл уксусной кислоты ледяной, охлаждали раствор до комнатной температуры, довели объем раствора до метки водой очищенной и перемешивали.

Ацетатный буферный раствор pH 4,5±0,05:

2,99 г натрия ацетата тригидрата помещали в мерную колбу объемом 1000 мл и растворяли в 900 мл воды очищенной. К этому раствору добавляли 14 мл 2 М раствора уксусной кислоты, довели объем раствора до 1000 мл водой очищенной и перемешивали.

Измеряли pH раствора, при необходимости довели pH до значения 4,5 раствором уксусной кислоты или раствором натрия гидроксида.

Подвижная фаза для хроматографии А – фосфатный буферный раствор pH 2,3±0,02:

6,085 г натрия дигидрофосфата дигидрата растворяли в мерной колбе вместимостью 1 л, довели объем раствора водой очищенной до метки, довели pH раствора до 2,3 ортофосфорной кислотой концентрированной.

Условия хроматографирования

Количество вальпроовой кислоты, перешедшей в раствор, определяли методом ВЭЖХ с УФ-детекцией.

| | |
|----------------------|--|
| Колонка: | Equisil ODS C18, 60x6 мм, 3 мкм |
| Температура колонки: | 25 °С |
| Подвижная фаза: | подвижная фаза А и Б (63:37 по объему) |
| Подвижная фаза А: | фосфатный буферный раствор pH 2,3 |
| Подвижная фаза Б: | ацетонитрил |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |
| Детектор: | УФ, 210 нм |
| Объем пробы: | 20 мкл |

Количественное определение

Приготовление стандартного раствора. Точную навеску стандартного образца вальпроата натрия (Sanofi, Серия: AM00007, годен до 12.2017), предварительно высушенного в сушильном шкафу в течение 8 ч при температуре 100 °С, растворяли в среде раст-

ворения до получения концентрации 0,5 мг/мл. Полученный раствор фильтровали через нейлоновый мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.

Количество вальпроат-иона (выраженного в вальпроате натрия), перешедшее в раствор из лекарственной формы, в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X(\%) = \frac{S(a) \times m(s) \times T \times 4}{S(s) \times LC},$$

где $S(a)$ – площадь пика действующего вещества на хроматограмме испытуемого раствора; $S(s)$ – площадь пика действующего вещества на хроматограмме стандартного раствора; $m(s)$ – навеска предварительно высушенного рабочего стандарта, мг; T – содержание действующего вещества в рабочем стандарте, %; LC – заявленное содержание действующего вещества в таблетке, мг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведенного исследования можно сделать вывод об эквивалентности профилей высвобождения препаратов Депакин® хроно таблетки пролонгированного действия, 500 мг («Санофи Винтроп Индустрия», Франция) в сравнении с препаратами Энкорат® хроно таблетки пролонгированного действия, 500 мг («Сан Фармасьютикал Индастриз Лтд.», Индия), Вальпарин® ХР таблетки пролонгированного действия, 500 мг («Торрент фармасьютикалс Лтд.», Индия), Конвулекс® таблетки пролонгированного действия, 500 мг («Герот Фармацойтика ГмбХ», Австрия) в средах буферных растворов pH 6,8 (контроля качества) и pH 4,5

на основании полученных значений факторов подобия f_2 в интервале от 50 до 100 (усреднённые значения высвобождения и факторы подобия приведены в таблицах 1 и 2, профили высвобождения приведены на рисунках 3 и 4). Вместе с тем можно сделать вывод о статистически значимом отличии профиля высвобождения препарата Депакин® хроносфера гранулы пролонгированного действия, 500 мг («Санофи Винтроп Индустрия», Франция) в средах буферных растворов pH 6,8 (контроля качества) и pH 4,5 на основании полученных значений факторов подобия f_2 менее 50. В обеих средах наблюдается более интенсивное высвобождение вальпроата из препарата Депакин® хроносфера. Известно, что для субстанций класса II БКС существует значимая *in vitro* – *in vivo* корреляция: скорость поступления АФИ в системный кровоток лимитируется его высвобождением в ЖКТ [6]. Таким образом, можно сделать предположение о том, что изученные гранулы могут иметь отличающиеся от таблеток фармакокинетические параметры и отличаются по своему терапевтическому действию. Этот вопрос особенно важен для препаратов вальпроевой кислоты, так как они относятся к категории препаратов с узким терапевтическим индексом [4, 5]. Однако несмотря на признанную в России и за рубежом информативность СТКР [13], существует возможность некорректного отражения поведения препарата в реальных условиях ЖКТ [14]. Так, Руководство по экспертизе лекарственных средств, том I рекомендует отдавать приоритет исследованиям биоэквивалентности, поэтому предположения об отличии терапевтического действия препарата Депакин® хроносфера, полученные при помощи СТКР, не могут иметь самостоятельного значения в клинической практике [10].

Таблица 1.

Усреднённые значения высвобождения вальпроата из препаратов вальпроевой кислоты пролонгированного действия, а также значения f_2 в среде pH 6,8

| Название/ Время, ч | 0,5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | f_2 от Депакин® хроно, % |
|------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------------------------------|
| Депакин® хроно | 12,9 | 22,1 | 34,5 | 43,2 | 50,1 | 60,3 | 68,0 | 73,7 | 78,3 | 81,9 | 84,7 | 87,0 | N/A |
| Энкорат® хроно | 13,4 | 25,3 | 40,2 | 50,3 | 58,2 | 69,8 | 77,6 | 84,3 | 89,4 | 93,1 | 95,6 | 98,3 | 52,4 |
| Вальпарин® ХР | 10,4 | 18,9 | 33,1 | 44,6 | 54,9 | 69,7 | 79,6 | 86,1 | 90,7 | 94,1 | 96,6 | 98,5 | 51,9 |
| Конвулекс® | 16,1 | 25,6 | 38,0 | 46,5 | 52,9 | 62,4 | 70,0 | 76,7 | 82,5 | 87,3 | 91,8 | 93,8 | 68,1 |
| Депакин® Хроносфера | 27,3 | 40,2 | 54,7 | 63,8 | 70,3 | 78,1 | 83,0 | 86,6 | 89,1 | 91,6 | 93,3 | 94,2 | 40,7 |

Таблица 2.

Усреднённые значения высвобождения вальпроата из препаратов вальпроевой кислоты пролонгированного действия, а также значения f_2 в среде pH 4,5

| Название/ Время, ч | 0,5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | f_2 от Депакин® хроно, % |
|------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------------------------------|
| Депакин® хроно | 8,4 | 14,6 | 24,1 | 31,7 | 37,5 | 46,2 | 52,4 | 57,6 | 61,0 | 64,7 | 67,5 | 69,3 | N/A |
| Энкорат® хроно | 10,6 | 17,2 | 26,4 | 33,7 | 39,3 | 48,3 | 55,2 | 60,0 | 64,2 | 67,0 | 70,2 | 70,9 | 79,4 |
| Вальпарин® ХР | 7,9 | 14,8 | 25,0 | 32,9 | 39,5 | 50,4 | 59,1 | 65,6 | 70,1 | 73,6 | 77,0 | 79,9 | 59,3 |
| Конвулекс® | 10,7 | 16,1 | 22,9 | 28,4 | 33,6 | 41,8 | 49,3 | 56,1 | 61,4 | 65,4 | 68,5 | 70,8 | 79,2 |
| Депакин® Хроносфера | 23,7 | 32,7 | 43,8 | 51,7 | 57,2 | 65,4 | 71,0 | 75,3 | 78,6 | 81,7 | 84,3 | 86,6 | 37 |

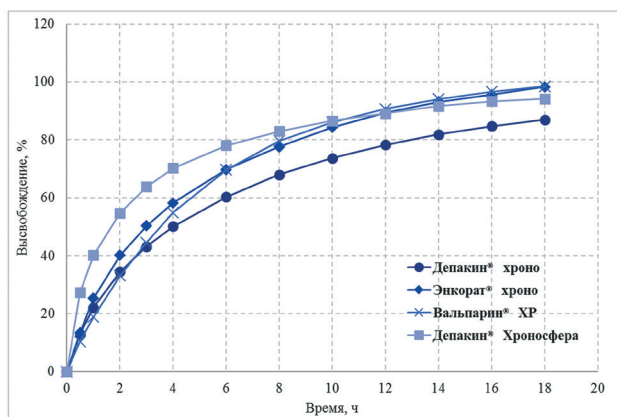


Рисунок 3. Профили высвобождения вальпроата из препаратов вальпроевой кислоты пролонгированного действия в среде pH 6,8

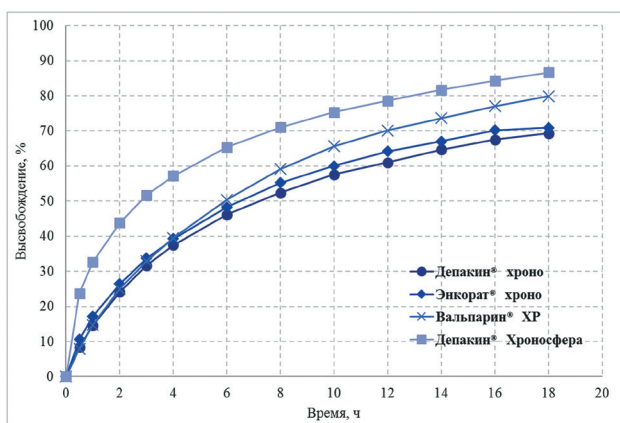


Рисунок 4. Профили высвобождения вальпроата из препаратов вальпроевой кислоты пролонгированного действия в среде pH 4,6

Результаты исследований в среде буферного раствора pH 1,2 не приводятся по причине их малой информативности. В данной среде высвобождение АФИ происходит с низкой интенсивностью, так как вещество переходит в неионизированную форму, что согласуется с имеющимися литературными данными [8]. Отметим, что наиболее значимыми являются результаты, полученные в среде pH 6,8 (цитратно-фосфатный буфер, среда контроля качества), так как именно в соответствующем отделе ЖКТ большую часть времени находится пролонгированный препарат перорального применения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов исследования можно сделать вывод об эквивалентности профилей высвобождения АФИ для изученного перечня таблеток вальпроевой кислоты пролонгированного действия различных производителей. Высвобождение АФИ из препарата Депакин® хроносфера гранулы пролонги-

рованного действия, 500 мг («Санофи Винтроп Индустрия», Франция) происходит с большей скоростью, что может указывать на отличия и в терапевтическом действии, так как для субстанций класса II БКС, к которым относится вальпроевая кислота, существует значимая *in vitro* – *in vivo* корреляция. Так как вальпроевая кислота является препаратом с узким терапевтическим индексом, данное обстоятельство приобретает особую важность. Тем не менее, этот вывод не может учитываться в терапевтической практике без подкрепления результатами соответствующих клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вальпроевая кислота (Valproic acid). URL: https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_380.htm (дата обращения: 03.10.17).
2. Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств (ЖНВЛП): распоряжение Правительства Российской Федерации от 07.12.2016 № 2199-р.
3. Г.В. Раменская, А.Ю. Савченко, И.Е. Шохин, М.А. Котлова, Ю.И. Кулинич, Г.Ф. Василенко, В.Г. Кулес. Биофармацевтическая классификация жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств // Фармация. 2011. № 5. С. 3–11.
4. Н.Н. Судилова, А.С. Андреева. Терапевтический лекарственный мониторинг оптимизация терапии противосудорожными препаратами // Современные наукоемкие технологии. 2004. № 3.
5. Е.Ю. Пастернак и др. Проблемы взаимозаменяемости противосудорожных средств: безопасность и эффективность препаратов вальпроевой кислоты // Неврологический журнал. 2015. Т. 20. № 5.
6. R. Hanson, V. Gray. Handbook on Dissolution Testing. 3rd edition // Dissolution Technologies. – Hockessin. 2004.
7. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. III. – М.: Гриф и К., 2014. 344 с.
8. А.А. Львова и др. Изучение кинетики растворения пролонгированного препарата вальпроевой кислоты (Депакин® хроно) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 3. С. 158–161.
9. База данных БКС. URL: <http://www.fptl.ru/pharmrazrabotka/BKS/350.pdf> (дата обращения: 03.10.17).
10. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. – М.: Гриф и К., 2013. 328 с.
11. Методические Указания Минздравсоцразвития России «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств», приложение 4. – М. 2008.
12. FDA dissolution database. URL: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/> (дата обращения: 14.09.17).
13. А.А. Свистунов, Г.В. Раменская, И.Е. Шохин. Испытание «Растворение» в фармацевтической практике. Современные подходы, концепции и биофармацевтические аспекты // Ремедиум. 2011. № 11.
14. Г.В. Раменская и др. Испытание «растворение» в средах, моделирующих физиологические условия, как способ оценки поведения лекарственных средств *in vivo* // Биомедицинская химия. 2011. Т. 57. № 5. С. 482–489.