

УДК 615.07:615.281/.282:615.453.6

О.С. НАЗАРОВА*, Л.О. БОБРИЦЬКА

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

ВИВЧЕННЯ КІНЕТИКИ РОЗЧИНЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ З ОРНІДАЗОЛОМ

*Проведено вивчення кінетики розчинення лікарських препаратів в формі таблеток з орнідазолом 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 орнідазолом.*

Ключові слова: стандартизація, антибактеріальний засіб, орнідазол, таблетки.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Для деяких генеричних лікарських засобів дослідження біоеквівалентності *in vivo* можна замінити вивченням порівняльної кінетики розчинення *in vitro* за процедурою «біовейвер» згідно документів ВООЗ [13] і FDA [12]. Дослідження *in vitro* базуються на Біофармацевтичній системі класифікації (БСК), що дозволяє розділити всі діючі речовини на чотири класи відповідно до їх розчинності у водних розчинах і ступеня проникнення через біологічні мембрани:

- клас I – висока розчинність, високий ступінь проникнення – від вивчення біоеквівалентності можна відмовитися;
- клас II – низька розчинність, високий ступінь проникнення – від вивчення біоеквівалентності можна відмовитися за умов, якщо активна речовина – є слабкою кислотою і препарат розчиняється більше ніж 85 % у розчині при рН 6,8 менш ніж за 30 хвилин, та профіль розчинення подібний до профілю референтного препарату при рН 1,2; 4,5; 6,8;
- клас III – висока розчинність, низький ступінь проникнення – від вивчення біоеквівалентності можна відмовитися за умов, якщо генерик і референтний препарат дуже швидко розчинні більше ніж 85% у розчині менш ніж за 15 хвилин при рН 1,2; 4,5; 6,8;
- клас IV – низька розчинність, низький ступінь проникнення – дослідження біоеквівалентності слід проводити.

Тобто лікарські засоби, які відносять до I класу БСК, не вимагають проведення досліджень

біодоступності та біоеквівалентності *in vivo*. Терапевтична еквівалентність цих препаратів підтверджується на підставі вивчення еквівалентності *in vitro* [1, 3, 4], враховуючи наступні характеристики:

- розчинність і проникність активного інгредієнту;
- профілі розчинення генеричного та референтного препаратів у трьох середовищах розчинення зі значеннями рН 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*.

Орнідазол є похідним 5-нітроімідазолу, який має протимікробну дію і застосовується при лікуванні протозойних інфекцій, а також у лікуванні та профілактиці анаеробної бактеріальної інфекції. За механізмом дії орнідазол – ДНК-тропний препарат з вибірковою активністю щодо мікроорганізмів, які мають ферментні системи, здатні відновлювати нітрогрупу і каталізувати взаємодію білків з нітросполуками. Після проникнення препарату в мікробну клітину механізм його дії обумовлений відновленням нітрогрупи під впливом нітроредуктаз мікроорганізму та активністю вже відновленого нітроімідазолу. Продукти відновлення утворюють комплекси з ДНК, викликаючи її деградацію, шляхом порушення процесу її реплікації та транскрипції. Продукти метаболізму препарату мають цитотоксичні властивості і порушують процеси клітинного дихання. Період напіввиведення орнідазолу становить 12 годин, що значно

більше, ніж у деяких похідних нітроїмідазолу [10]. Це є особливою перевагою для зниження дозування, частоти і тривалості його терапії. Орнідазол використовують орально, вагінально або внутрішньовенно.

Таким чином, розробка вітчизняного препарату на основі орнідазолу є актуальною.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Закордонними авторами [8] були проведені дослідження з вивчення розчинення в фосфатному буферному розчині рН 7,4 мікросфер орнідазолу на основі полівінілпіролідону, які свідчать про більш ніж 90 % вивільнення діючої речовини протягом 15 хвилин. Визначення концентрації орнідазолу в діалізаті проводили методом спектрофотометрії.

Досліджені *in vitro* та *in vivo* (фармакокінетичні) характеристики мукоадгезивних систем (на основі хітозану та гідроксіпропілцелюлози) з орнідазолом свідчать про високий ступінь вивільнення діючої речовини від 80 до 96% при рН 6,8 і про те, що мукоадгезивні препарати можуть бути гарною альтернативою для таблеток негайного вивільнення з орнідазолом за рахунок зменшення впливу на шлунок і слизову оболонку кишечника [9].

При вивченні профілів розчинення вагінальних супозиторіїв з орнідазолом у порівнянні з вагінальними таблетками в фосфатному буферному розчині рН 4,5 і вагінальній рідині відповідно, кількісне визначення орнідазолу проводили методом рідинної хроматографії. Встановлено подібність кінетичних кривих досліджуваних зразків [7].

В науковій літературі є дані про відмову від досліджень *in vivo* біоеквівалентності для твердих лікарських форм негайного вивільнення, що містять метронідазол, який можна віднести до І класу, згідно БСК. Таким чином доцільно використання процедури «біоєвейвера» для твердих дозованих форм, якщо: випробований препарат є швидко розчинним та спостерігається подібність профілів розчинення при рН=(1,2; 4,5 і 6,8); тестований зразок має якісний і кількісний склад, ідентичний референтному препарату [6]. Дані, щодо прийняття такого рішення стосовно лікарських засобів з орнідазолом, в літературі відсутні.

На підставі проведених досліджень з кінетики вивільнення орнідазолу з етилцелюлозних плівок, встановлена можливість контролю дифузії цієї речовини протягом тривалого часу. Кількісне визначення орнідазолу у фосфатному буферному розчині рН 6,6 проводили методом спектрофотометрії [11].

ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Метою наших досліджень було вивчення кінетики розчинення лікарських препаратів в твердій дозованій лікарській формі з орнідазолом для оцінки їх еквівалентності в умовах *in vitro* (процедура «біоєвейвер»).

ВИКЛАД ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ

Об'єктами дослідження є: препарат-генерик у формі таблеток «Мерадазол» (вкриті плівковою оболонкою, виробництва ВАР «Фітофарм», Україна); референтний препарат у формі таблеток «Тиберал» (виробництва фірми «Ф. Хоффманн-Ля Рош Літд», Швейцарія).

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

У роботі використовували стандартний зразок (СЗ) орнідазолу («Aarti Drugs Limited», Індія) 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» [1], Настанови з дослідження біодоступності та біоеквівалентності [3], методичних рекомендацій [4], а також Керівництва ВООЗ [13] в трьох середовищах з різними значеннями рН: розчині хлористоводневої кислоти рН 1,2, ацетатному буферному розчині рН 4,5 та фосфатному буферному розчині рН 6,8. Всі буферні розчини готували згідно ДФУ, Доповнення 2, 2.9.3, с. 141. Дегазацію середовищ розчинення проводили шляхом нагрівання до температури $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$, з наступною фільтрацією під вакуумом крізь мембранний фільтр з розміром пор 45 мкм і інтенсивним перемішуванням під вакуумом протягом 5 хвилин. Умови проведення тесту «Розчинення»: апарат «Erweka», використовуючи прилад із кошиком; об'єм середовища розчинення – 1000 мл; температура середовища розчинення – $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$; 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 (при рН 1,2) або 0,5 мл (при рН 4,5 та 6,8) одержаного фільтрату доводили відповідним середовищем розчинення до об'єму 25,0 мл. Відібраний об'єм

компенсували відповідним середовищем розчинення. Для отримання статистично достовірних результатів дослідження проводили на 12 зразках кожного з об'єктів дослідження.

Еквівалентність кінетики розчинення лікарських препаратів в формі таблеток з орнідазолом оцінювали за значенням фактору подібності (f_2), який повинен мати значення від 50 до 100 для можливості зробити висновок про відповідність кінетичних кривих:

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right)^n (R_{(t)} - T_{(t)})^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

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-генеру (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 орнідазолу при проведенні досліджень *in vitro* проводили методом спектрофотометрії. Оптичну густину випробовуваних розчинів вимірювали в максимумі поглинання при довжині хвилі 276 нм (при pH 1,2) або 320 нм (при pH 4,5 та 6,8), у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи відповідне середовище розчинення. Паралельно вимірювали оптичну густину розчину порівняння (СЗ орнідазолу). Типовий спектр поглинання орнідазолу при вивченні кінетики розчинення наведено на рис. 1.

Орнідазол є похідним 5-нітроімідазолів (5-НІМЗ) – 1-(3-хлор-2-гідроксипропил)-2-метил-5-нітроімідазол і являє собою кристалічний порошок злегка жовтуватого кольору, розчинний у метанолі, хлороформі і метиленхлориді. Структурна формула орнідазолу наведена на рис. 2. рКа орнідазолу дорівнює $2,4 \pm 0,1$ [10, 7]. Дослідження розчинності проводили для субстанції орнідазолу фірми "Aarti Drugs Limited" (Індія). На підставі проведення досліджень розчинності субстанції орнідазолу гідрохлориду встановлено, що найбільша одноразова доза (1500 мг орнідазолу) розчиняється в 250 мл середовища з хлористоводневою кислотою pH 1,2, ацетатного буферного розчину pH 4,5 і фосфатного буферного розчину pH 6,8. Відповідно до вимог ВООЗ за БСК, орнідазолу гідрохлорид можна віднести до лікарських речовин з високою біофармацев-

тичною розчинністю, тобто до I або III класу БСК [4].

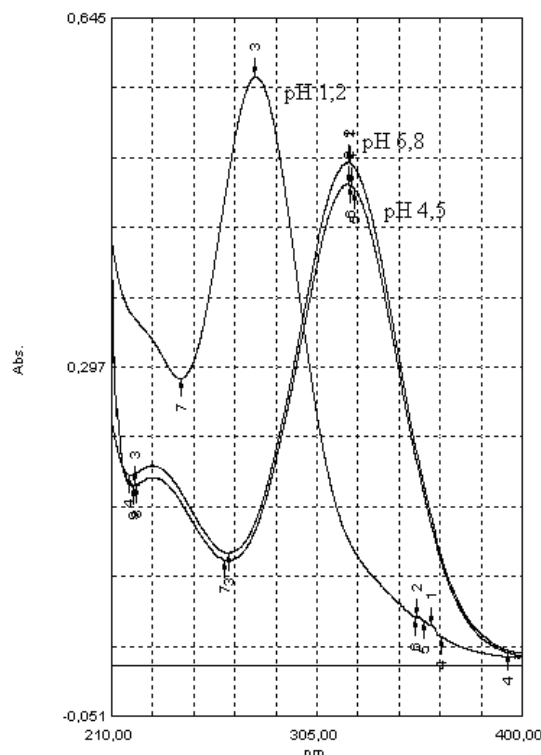


Рис. 1. Типовий спектр поглинання орнідазолу при вивченні кінетики розчинення

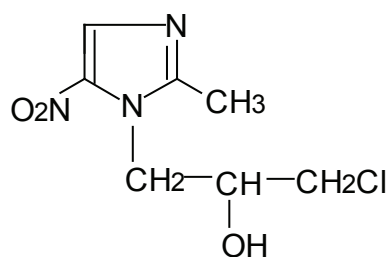


Рис. 2. Структурна формула орнідазолу

Орнідазол після прийому всередину швидко всмоктується в шлунково-кишковому тракті, біодоступність, у середньому, становить 90 %. Максимальні концентрації в плазмі досягаються в межах 3 годин [2]. З білками плазми зв'язується менше 15 %. Препарат легко проходить крізь гістогематичні бар'єри, включаючи гематоенцефалічний, добре проникає в рідини і тканини організму. Метаболізується в печінці. Виводиться переважно нирками у вигляді метаболітів (близько 4 % прийнятої дози – у незмінному вигляді), 22 % – кишечником. У порівнянні з метронідазолом орнідазол має такі переваги: період напіввиведення – 12-14 год; немає «антабусної» (дисульфірамової) реакції [5].

Таким чином, орнідазол можна віднести до I класу БСК, тобто до речовини з високою біофармацевтичною розчинністю та високим ступенем проникнення, що дозволить проведення порівняльних досліджень *in vitro* для підтвердження еквівалентності лікарських засобів.

Кінетичні криві розчинення орнідазолу для препарату «Мерадазол» та референтного препарату «Тиберал» в трьох середовищах розчинення наведені на рис. 3-5. В табл. 1 наведені результати дослідження *in vitro* для підтвердження еквівалентності препаратів: значення розчинення орнідазолу в кожній часовій точці та розраховане значення фактору подібності.

Таблиця 1

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ *IN VITRO* ДЛЯ ПІДТВЕРДЖЕННЯ ЕКВІВАЛЕНТНОСТІ ПРЕПАРАТІВ «МЕРАДАЗОЛ» ТА «ТИБЕРАЛ»

№ п/п	Час, хв	Розчинення орнідазолу, %	
		«Тиберал», таблетки	«Мерадазол», таблетки
Середовище з хлористоводневою кислотою рН 1,2			
1	15	97,8	99,5
2	30	100,8	104,1
3	45	100,9	104,6
Фактор подібності f_2 не розраховують		За 15 хв вивільняється більше 85 % речовини	
Ацетатний буферний розчин рН 4,5			
1	15	88,7	90,2
2	30	100,9	104,4
3	45	102,0	104,5
Фактор подібності f_2 не розраховують		За 15 хв вивільняється більше 85 % речовини	
Фосфатний буферний розчин рН 6,8			
1	15	92,2	97,6
2	30	100,7	101,4
3	45	102,5	104,1
Фактор подібності f_2 не розраховують		За 15 хв вивільняється більше 85 % речовини	

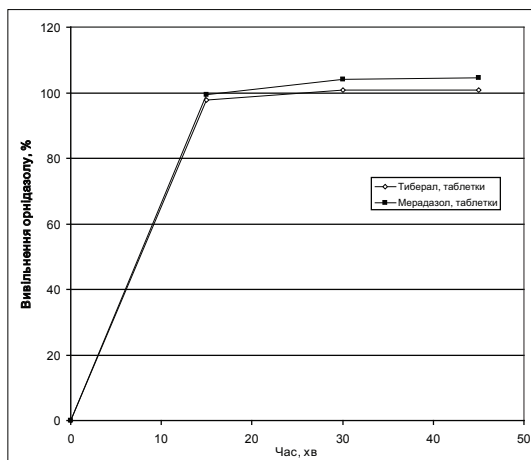


Рис. 3. Профілі кінетики розчинення препаратів орнідазолу в середовищі з хлористоводневою кислотою рН 1,2 ($n = 12$)

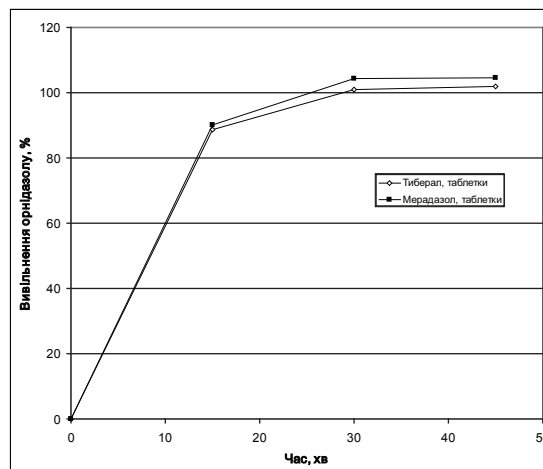


Рис. 4. Профілі кінетики розчинення препаратів орнідазолу в середовищі ацетатного буферного розчину рН 4,5 ($n = 12$)

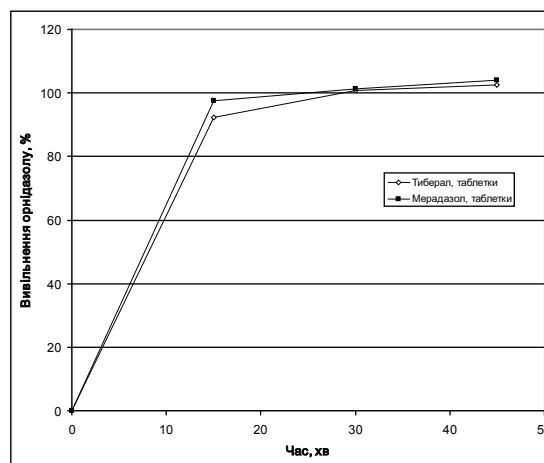


Рис. 5. Профілі кінетики розчинення препаратів орнідазолу в середовищі фосфатного буферного розчину рН 6,8 ($n = 12$)

На підставі отриманих даних встановлено, що для досліджуваних препаратів спостерігається еквівалентність профілів розчинення для всіх рекомендованих середовищ розчинення (рН 1,2, 4, 5 та 6,8). В усіх трьох середовищах розчинення вивільнення орнідазолу склало більше 85 % через 15 хвилин (табл. 1), тобто досліджувані препарати можуть бути віднесені до категорії «дуже швидко розчинні» і встановлення їх еквівалентності можливо проводити методом *in vitro*. Встановлено, що профілі розчинення (кінетичні криві розчинення) препаратів «Мерадазол» і «Тиберал» в кожному з трьох рекомендованих середовищ розчинення подібні.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ РОЗВІДОК

1. За результатами вивчення порівняльної кінетики розчинення встановлено еквівалентність профілів розчинення досліджуваних препаратів з орнідазолом – «Мерадазол» та «Тиберал» при рН 1,2, 4,5 і 6,8 без розрахунку фактора подібності (вивільнення орнідазолу склало більше 85 % через 15 хвилин в трьох середовищах).
2. Встановлено, що рекомендації використання процедури «біолейвер» для досліджуваних препаратів з орнідазолом доводять їх еквівалентність.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Державна фармакопея України Допов. 2 / Державне підприємство Науково-експертний фармакопейний центр. – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2007. – 617 с.
2. Компендиум. Лекарственные препараты (online). – Режим доступу: <http://compendium.com.ua/info/168126/arterium-korporatsija/ornizol-sup-sup> - Назва з екрану.
3. Настанова з клінічних досліджень. Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності. (Настанова 42-7.1:2005). – К.: «Моріон», – 2005. – 22 с. – (МОЗ України).
4. Проведення порівняльних досліджень *in vitro* для підтвердження еквівалентності лікарських засобів у твердій дозованій формі системної дії. – Метод. рекомен. – К.: «Моріон», – 2007. – 41 с.
5. Рябченко И.Н. Производные имидазола в комплексной терапии демодикоза / И.Н. Рябченко // Український журнал дерматології, венерології, косметології. – 2007. – № 3. – С. 28-30.
6. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Metronidazole / Camila F. Redigueri, Valentina Porta, Diana S. G. Nunes [et al.] // Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2011. – Vol. 100, Issue 5. – P. 1618–1627.
7. Dissolution and histological studies on Ornidazole vaginal formulations / S. Yaprak Karavana, E. Homan Gökçe, M. Özyazici [et al.] // Acta Pharmaceutica Scientia. – 2010. – № 52. – P. 431-441. – Режим доступу: <http://www.actapharmascienciacia.org/actapharmascienciacia.org/pdf/2010-vol52-no4-7.pdf> – Назва з екрану.
8. Formulation and evaluation of orodispersible tablet of ornidazole / Kulkarni Maushumi S*, Zeeshan Ahmed, S. Bhise Kiran [et al.] // International Journal of Pharmaceutical Studies and Research. – 2010. – Vol. I / Issue II. – P. 39-47.
9. Optimization, Characterisation and Pharmacokinetic Studies of Mucoadhesive Oral Multiple Unit Systems of Ornidazole / Govind S. ASANE, Yamsani Madhusudan RAO, Jaykrishna H. BHATT [et al.] // Sci Pharm. – 2011. – № 79. – P. 181–196. – Режим доступу: <http://www.scipharm.at/download.asp?id=918> – Назва з екрану.
10. Sinem Y. HIZARCIO/LU. Bioavailability File: Ornidazole / Sinem Y. HIZARCIO/LU, Zeynep AY, Mine ÖZYAZICI. // J. Pharm. Sci., 2004. – № 29, P. 133-144. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://fabad.org/fabad.org/pdf/volum29/issue3/fabad2004j.pharm.sci.,29,133-144,2004.pdf.pdf> - Назва з екрану.
11. Sustained release device containing ornidazole for periodontitis / M. Shankraiah, C. Nagesh, J. S. Venkatech [et al.] // International Research Journal of Pharmacy. – 2011. – № 2(4). – P. 217-221. – Режим доступу: <http://www.irjonline.com/vol2/issue4/42.pdf> – Назва з екрану.
12. Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system (2000) US Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER, August 2000. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070246.pdf> - Назва з екрану.
13. 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 615.07:615.281.282:615.453.6

Е.С. Назарова, Л.А. Бобрицкая

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ С ОРНИДАЗОЛОМ

Проведено изучение кинетики растворения лекарственных препаратов в форме таблеток с орнидазолом 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 орнидазола.

Ключевые слова: стандартизация, антибактериальное средство, орнидазол, таблетки

UDC 615.07:615.281/.282:615.453.6

E.S. Nazarova, L.A. Bobritskaya

THE KINETICS OF DISSOLUTION OF DRUGS WITH ORNIDAZOLE

The study of the dissolution kinetics of drugs in tablet form with ornidazole 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 ornidazole.

Key words: standardization, anti-infective preparation, ornidazole, pill.

Адреса для листування:

61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4

Тел: (0572) 67-88-52

E-mail: loridana2009@mail.ru

Надійшла до редакції:

14.05.2012