

V. Mykhailenko, I. Herasymova, L. Vyshnevskva

Research into the development of the multicomponent extemporaneous gel for treatment of arthritis

National University of Pharmacy

Introduction. A contemporary pharmaceutical market of Ukraine is known to be represented by a sufficient range of finished pharmaceutical products. Although a demand for extemporaneous preparations is still relevant because of the advantages. According to the results of the analysis, the relevance of creating a new extemporaneous preparation for the treatment of arthritis and arthrosis as the soft medicinal form –gel, was established. **Material and methods.** Non-steroidal anti-inflammatory agent – nimesulide and natural – dense extract of pepper were selected as active ingredients. **Results.** According to the results of the research the formulation of the new anti-inflammatory gel has been experimentally substantiated and the technology of its pharmacy-based production was developed. Given the results, the next stage of research involved the development of quality control methods of the extemporaneous gel with nimesulide and dense extract of pepper.

Key words: nimesulide, dense extract of pepper, gel, technology.

Відомості про авторів:

Михайленко Валентина Вікторівна – к. фарм. н., доцент кафедри аптечної технології ліків імені Д. П. Сала Національного фармацевтичного університету. Адреса: Харків, вул. Блюхера, 4, тел.: (0572) 67-91-82.

Вишневецька Лілія Іванівна – д. фарм. н., професор кафедри аптечної технології ліків імені Д. П. Сала Національного фармацевтичного університету. Адреса: Харків, вул. Блюхера, 4, тел.: (0572) 67-91-82.

УДК 615.074:615.22:615.453.6

© О.С. НАЗАРОВА, 2015

О.С. Назарова

ОЦІНКА ЕКВІВАЛЕНТНОСТІ IN VITRO ГЕНЕРИЧНОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ В ФОРМІ ТАБЛЕТОК З ЛІЗИНОПРИЛОМ ДИГІДРАТОМ

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»

Вступ. Вивчення кінетики розчинення лікарських препаратів в твердій дозованій лікарській формі з лізиноприлом дигідратом для оцінки їх еквівалентності в умовах in vitro для проведення фармацевтичної розробки генеричного лікарського засобу в формі таблеток. **Матеріал і методи.** Вивчали препарат-генерик «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20мг, який планується до виробництва ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод», Україна і референтний препарат «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг, фірми «Merckle GmbH», Німеччина. Дослідження проводили методом рідинної хроматографії фірми та на приборі для розчинення твердих дозованих форм.

Результати. Проведено вивчення кінетики розчинення лікарських препаратів в формі таблеток з лізиноприлом дигідратом (дозуванням по 20мг) відповідно до вимог з проведення процедури «Біовевер» згідно рекомендаціям ДФУ і вимогам ВООЗ. Встановлено, що в середовищі з хлористоводневою кислотою

pH 1,2, в середовищі ацетатного буферного розчину з pH 4,5 і в середовищі фосфатного буферного розчину з pH 6,8 за 15 хв більше 85% діючої речовини переходить у розчин, отже, профілі розчинення (кінетичні криві розчинення) досліджуваних препаратів в цих середовищах подібні, а препарати в них є «дуже швидко розчинними».

Висновки. Профілі розчинення *in vitro* (кінетичні криві розчинення) оригінального лікарського засобу «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20мг і препарату-генерику «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20мг в середовищах розчинення з pH 1,2, 4,5 і 6,8 еквівалентні.

Ключові слова: лізиноприлу дигідрат, кінетика розчинення, *in vitro*, біовейвер, метод рідинної хроматографії, таблетки.

Вступ. Для доказу еквівалентності нового складу препарату-генерику референтному препарату дослідження *in vitro*, що дозволяють визначати швидкість і ступінь вивільнення/розчинення лікарської речовини з лікарської форми, можуть бути використані, як альтернативні дослідженням *in vivo* [1]. Дослідження еквівалентності *in vitro* - це комплексне дослідження, яке ґрунтується на класифікації діючих речовин згідно з Біофармацевтичної системою класифікації (БСК) і розчиненням препарату, а також включає порівняння профілів розчинення генеричних та референтних препаратів у трьох середовищах розчинення зі значеннями pH 1,2, pH 4,5 і pH 6,8 [2, 3]. Відповідно до БСК лізиноприлу дигідрат відноситься до III класу, тобто до речовин з високою біофармацевтичною розчинністю та низьким ступенем проникнення [4]. Для III класу БСК можливо проведення порівняльних досліджень *in vitro* для підтвердження еквівалентності лікарських засобів твердій дозованої форми системної дії [5], також ці дослідження доцільні для вибору складу допоміжних речовин і технології виготовлення на етапі фармацевтичної розробки. Критеріями еквівалентності *in vitro* відповідно процедурі «Біовейвер» для III класу БСК [5] є: препарат належить до дуже швидко розчинних лікарських засобів, як і референтний препарат у буферних розчинах зі значенням pH 1,2, 4,5 і 6,8 при використанні приладу з лопаттю (75 об/хв) або приладу із кошиком, що обертається (100 об/хв); співвідношення ризик – переваги додатково підтверджені з точки зору ступеня, місця та механізму абсорбції.

Мета. Вивчення кінетики розчинення лікарських препаратів в твердій дозованій лікарській формі з лізиноприлом дигідратом для оцінки їх еквівалентності в умовах *in vitro* для проведення фармацевтичної розробки генеричного лікарського засобу в формі таблеток.

Матеріал і методи дослідження. Як об'єкти дослідження вивчали: препарат-генерик «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг, який планується до виробництва ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод», Україна і референтний препарат «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг, фірми «Merckle GmbH», Німеччина. Ці препарати містять однакову кількість однієї активної субстанції лізиноприлу дигідрату та однакові допоміжні речовини в однакової лікарській формі, тобто є фармацевтично еквівалентними препаратами. Аналітичні дослідження проводили методом рідинної хроматографії на хроматографі фірми «Waters 2487» (США) з ультрафіолетовим детектором та на приборі для розчинення твердих дозованих форм «Egweka» (Німеччина), також використовували аналітичні ваги ВА

210-S фірми «Sartorius» (Швейцарія), рН-метр МР-512 (Китай). Вивчення кінетики розчинення проводили відповідно до монографії ДФУ, Доповнення 2 «5.N.2. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності генеричних лікарських засобів» [5], Настанови з дослідження біодоступності та біоеквівалентності [6], методичних рекомендацій [2], а також Керівництва ВООЗ [7] в трьох буферних 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. Умови проведення кінетики розчинення: апарат «Егвека», використовуючи прилад із лопаттю; об'єм середовища розчинення – 900 мл; температура середовища розчинення – (37.0+0.5) °С; швидкість обертання лопаті – 75 об/хв. Відбір проб проводили через 10, 15, 20, 30 і 45хв. Проби відбирали вручну піпеткою місткістю 2мл з ділянки посередині між поверхнею середовища розчинення і лопаттю на відстані 2 см від стінки ємкості для розчинення. Отримані проби фільтрували крізь мембранний шприцевий фільтр (нейлон, розмір пор 0,45 мкм). Відібраний об'єм компенсували відповідним середовищем розчинення. Для отримання статистично достовірних результатів дослідження проводили на 12 зразках кожного з об'єктів дослідження. 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.

Результати дослідження. Кількісне визначення лізиноприлу дигідрату, який перейшов в середовище розчинення, при проведенні досліджень *in vitro* проводили методом рідинної хроматографії в наступних умовах: хроматографічна колонка розміром (250x4.6)мм, заповнена сферичним октилсілільним силікагелем для хроматографії з розміром часток 5мкм (наприклад XTerra RP8); рухома фаза: ацетонітрил – фосфатний буферний розчин рН 2.0 (4: 96); швидкість рухомої фази – 1,5 мл/хв; детектування за довжини хвилі 210 нм; температура колонки – 50°C. Методика кількісного визначення лізиноприлу дигідрату з використанням методу рідинної хроматографії валідована на основних параметрах: специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність), правильність та діапазон застосування. В табл. 1 наведені результати дослідження *in vitro* для підтвердження еквівалентності досліджуваних препаратів: значення розчинення лізиноприлу дигідрату в кожній часовій точці. Кінетичні криві розчинення лізиноприлу дигідрату для препарату-генеріку «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20мг і референтного препарату «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг в трьох середовищах розчинення наведені на рис. 1-3. На підставі отриманих нами даних встановлено, що для досліджуваних препаратів спостерігається еквівалентність профілів розчинення для всіх досліджуваних середовищ розчинення (рН 1,2, 4,5 і 6,8). В середовищі з хлористоводневою кислотою рН 1,2, в середовищі ацетатного буферного розчину з рН 4,5 і в середовищі фосфатного буферного розчину з рН 6.8 за 15 хв більше 85% діючої речовини переходить у розчин, отже, профілі розчинення (кінетичні криві розчинення) даних препаратів в цих середовищах подібні, а препарати в них є «дуже швидко розчинними» (рис. 1).

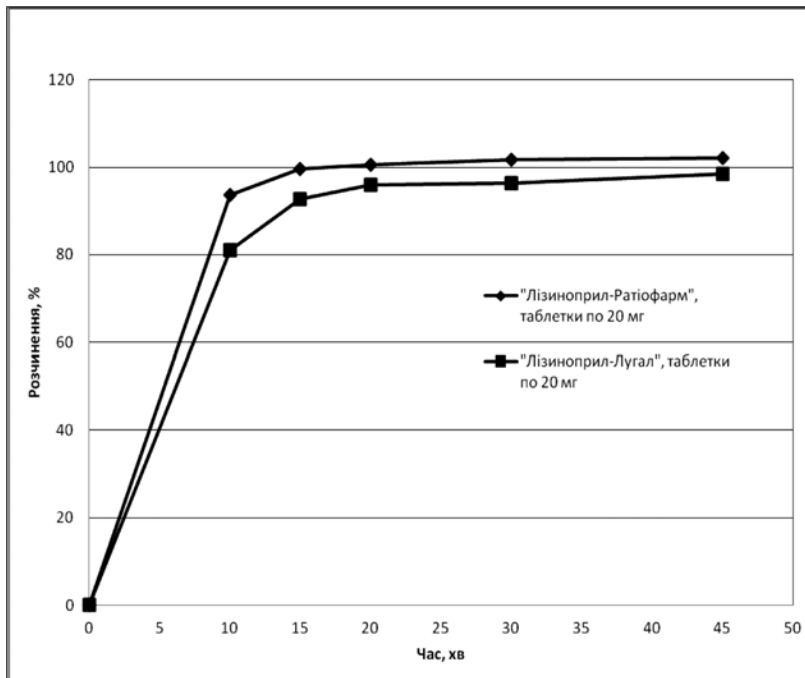


Рис. 1. Профілі кінетики розчинення препаратів «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг і «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг в середовищі з хлористоводневою кислотою рН 1.2 (n = 12).

Таблиця 1

Результати дослідження *in vitro* для підтвердження еквівалентності препаратів «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг і «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг

Розчинення лізиноприлу дигідрату, %			
Середовище з хлористоводневою кислотою рН 1.2			
№ п/п	Час, хв	«Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг	«Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг
1	10	81.02	93.70
2	15	92.70	99.70
3	20	96.00	100.65
4	30	96.35	101.65
5	45	98.36	102.10
Фактор подібності f ₂ не розраховують		За 15 хв вивільняється більше 85% речовини	

Ацетатний буферний розчин рН 4.5			
№/п	Час, хв.	«Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг	«Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг
1	10	96.62	87.68
2	15	98.09	92.28
3	20	100.09	93.93
4	30	101.11	95.01
	45	101.46	96.88
Фактор подібності f_2 не розраховують		За 15 хв вивільняється більше 85 % речовини	
Фосфатний буферний розчин рН 6.8			
№/п	Час, хв.	«Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг	«Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг
1	10	98.73	84.38
2	15	100.31	90.65
3	20	101.00	93.47
4	30	101.56	96.44
	45	101.33	100.64
Фактор подібності f_2 не розраховують		За 15 хв вивільняється більше 85 % речовини	

Величина стандартного відхилення (SD) для всіх результатів не перевищує 10%, що відповідає вимогам, що пред'являються до даної величиною відповідно до ДФУ 1.2. (5.N.2.). Еквівалентність генеричного лікарського засобу «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20мг і референтного препарату «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг, до складу яких входить діюча речовина лізиноприлу дигідрат, що належить до III класу БСК доведена за результатами досліджень *in vitro*, а саме тим, що препарати дуже швидко розчиняються (більше 85% діючої речовини переходить у розчин за 15 хв і менше) у кожному з досліджуваних середовищ при використанні приладу із лопаттю (75 об/хв), що відповідає вимогам ДФУ [5].

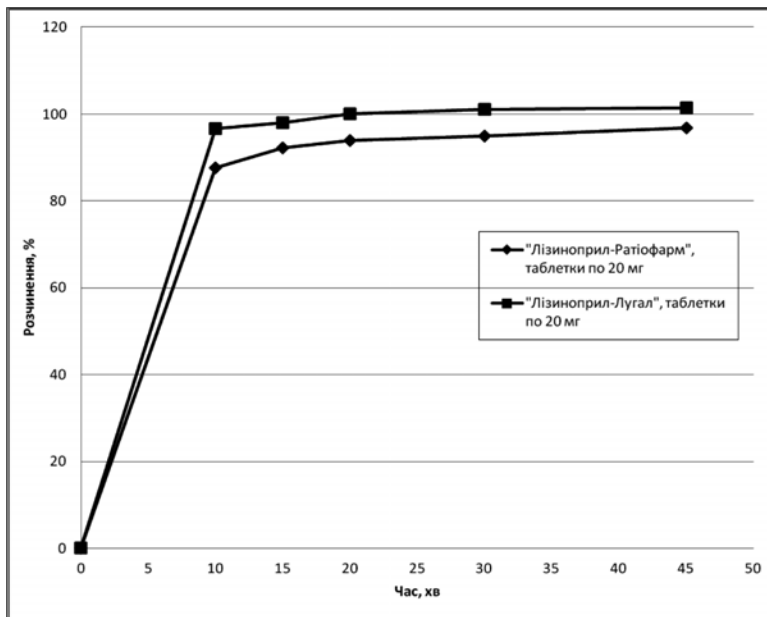


Рис. 2. Профілі кінетики розчинення препаратів «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг і «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг в середовищі ацетатного буферного розчину рН 4.5 (n = 12).

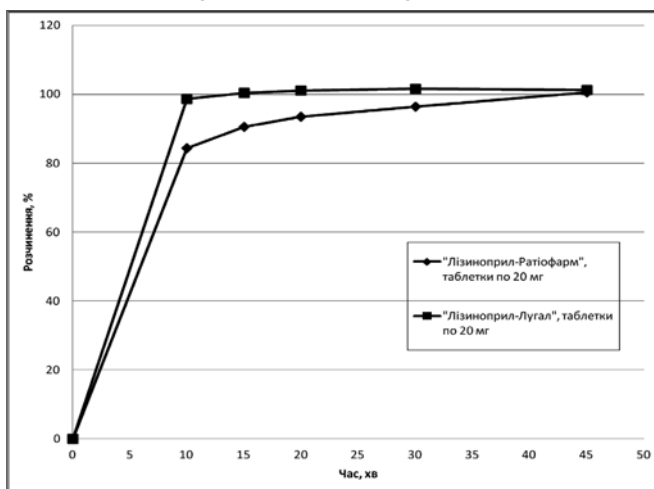


Рис. 3. Профілі кінетики розчинення препаратів «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг і «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг в середовищі фосфатного буферного розчину рН 6.8 (n = 12).

Висновки. Встановлено, що результати вивчення кінетики розчинення доводять еквівалентність профілів розчинення *in vitro* досліджуваного препарату «Лізиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг виробництва ПАТ «Луганський хіміко-фармацевтичний завод», м. Луганськ, Україна і референтного препарату «Лізиноприл-Ратіофарм®», таблетки по 20 мг фірми «Merckle GmbH», Німеччина при pH 1.2, 4.5 і 6.8.

Література

1. Чижова Д. А. Фармакокінетическая и биофармацевтическая оценка качества твердых лекарственных форм методами *in vitro* и *in vivo* : автореф. дис. на соискание научн. степени канд. биол. наук: спец. 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология» / Д. А.Чижова. - Москва, 2009. - 24 с.
2. Головенко М. Я. Біофармацевтична класифікаційна система / М. Я. Головенко, О. П. Баула, І. Ю. Борисюк. – К.: Авіцена. - 2010. – 299 с.
3. Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system.- US Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). - August 2000. - Режим доступу: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070246.pdf>.
4. Therapeutic System Research Laboratories. Biopharmaceutics Classification System (BCS) Results.- [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <http://166.78.14.201/tsrlinc.com/services/bcs/results.cfm>.
5. 5.N.2. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності генеричних лікарських засобів // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. – Доповнення 2. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – С. 231.
6. Настанова з клінічних досліджень. Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності: Настанова 42-7.1:2005 / Державний фармакологічний центр МОЗ України і ДП «Державний науковий центр лікарських засобів». Розроб.: В. І. Мальцев, М.О. Ляпунов та ін.- Офіц. вид.- Київ: МОЗ України [Моріон], 2005.- 22 с.
7. 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.

Е.С. Назарова

Оценка эквивалентности *in vitro* генерического лекарственного средства в форме таблеток с лизиноприлом дигидратом

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и изделий медицинского назначения»

Цель. Изучение кинетики растворения лекарственных препаратов в твердой дозированной лекарственной форме с лизиноприлом дигидрата для оценки их эквивалентности в условиях *in vitro* для проведения фармацевтической разработки генерического лекарственного средства в форме таблеток.

Матеріал и методи. Изучали препарат-генерик «Лизиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг, планируемый к производству ПАО «Луганский химико-фармацевтический завод», Украина и референтный препарат «Лизиноприл-Ратиофарм®», таблетки по 20 мг, фирма «Merckle GmbH», Германия. Исследования проводили методом жидкостной хроматографии и на приборе для растворения твердых лекарственных форм.

Результаты. Проведено изучение кинетики растворения лекарственных препаратов в форме таблеток с лизиноприлом дигидрат (дозировкой 20 мг) в соответствии с требованиями по проведению процедуры «биовейвер» согласно рекомендациям ГФУ и требованиям ВООЗ. Установлено, что в среде с соляной кислотой pH 1.2, в среде ацетатного буферного раствора с pH 4.5 и в среде фосфатного буферного раствора с pH 6.8 за 15 мин более 85% действующего вещества переходит в раствор, следовательно, профили растворения (кинетические кривые растворения) исследуемых препаратов в этих средах подобные, а препараты в них «очень быстрорастворимы».

Выводы. Профили растворения *in vitro* (кинетические кривые растворения) оригинального лекарственного средства «Лизиноприл-Ратиофарм®», таблетки по 20 мг и препарата-генерика «Лизиноприл-Лугал», таблетки по 20 мг в средах растворения с pH 1.2, 4.5 и 6.8 эквивалентны.

Ключевые слова: лизиноприл дигидрат, кинетика растворения, *in vitro*, биовейвер, метод жидкостной хроматографии, таблетки.

E.S.Nazarova

In vitro equivalence assessment of generic medicines in tablet form and lisinopril dihydrate

State Enterprise «State Scientific Centre for Drugs and Medical Product»

The aim of this work is to study the kinetics of dissolution of drugs in solid dosage form of lisinopril dihydrate with the view of assessing their equivalence in terms of *in vitro* for pharmaceutical development of generic drug in tablet form.

Material and methods. There were studied generic drugs "Lisinopril- Lugal", tablets of 20 mg, which was scheduled for production of "Lugansk Chemical and Pharmaceutical Plant", Ukraine and the reference product "Lisinopril-Ratiofarm®", tablets of 20 mg, the company «Merckle GmbH», Germany. The study was performed by liquid chromatography firm and the device for dissolution of solid dosage forms.

Results. We studied the kinetics of tablet form drugs dissolution with lisinopril dihydrate (20 mg) subject to the procedures of "Biowaiver" according to the recommendations of the State Pharmacopoeia of Ukraine and the WHO. It was established that during 15 minutes more than 85% of the active substance goes into solution in the medium with hydrochloric acid pH 1.2, the medium of acetate buffer solution with a pH of 4.5 and in the medium of phosphate buffer solution with pH 6.8, hence dissolution profiles (the kinetic curves of dissolution) of the studied drugs were similar in the media and the drugs were "very instant" in them.

Conclusions. The dissolution profiles *in vitro* (the kinetic curves of dissolution) of the original drug "Lisinopril-Ratiofarm®", 20 mg tablets and generic drugs "Lisinopril-Lugal", 20 mg tablets in the dissolution media with pH 1.2, 4.5 and 6.8 are equivalent.

Key words: lisinopril dihydrate, dissolution kinetics, *in vitro*, Biowaiver, method of liquid chromatography, tablets.

Відомості про автора:

Назарова Олена Сергіївна - зав. лаб. аналізу, якості та стандартизації лікарських препаратів ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (ДП «ДНЦЛЗ»), к. фарм. н. Адреса: Харків, вул. Астрономічна, 33, тел.: (057) 720-64-61.