

1 – ООО «Центр фармацевтической аналитики», 117246, Россия, Москва, Научный проезд, 20, стр. 3

2 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России, 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

1 – Center of Pharmaceutical Analytics Ltd, 20, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia

2 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

\* адресат для переписки:  
E-mail: igorshohin@yandex.ru

## ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ (ДЕПАКИН® ХРОНО)

А.А. Львова<sup>1</sup>, Ю.Е. Болдина<sup>1</sup>, И.Е. Шохин<sup>1\*</sup>, Т.Н. Комаров<sup>1</sup>,  
Л.А. Меньшикова<sup>2</sup>, Ю.В. Медведев<sup>1,2</sup>

**Резюме.** Изучена кинетика растворения препаратов вальпроевой кислоты в трех средах растворения: 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, ацетатный буферный раствор с рН 4,5, цитратно-фосфатный буферный раствор с рН 6,8. Исследование проводилось на аппарате «Вращающаяся корзинка» при скорости вращения 75 об/мин. Временные точки отбора проб: 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 6 часов. Количественное определение проводилось методом ВЭЖХ с УФ-детектированием. В среде 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты с рН 1,2 и ацетатного буферного раствора с рН 4,5 высвобождение происходит в незначительной степени, что связано с переходом вальпроата натрия в вальпроевую кислоту. Это существенно снижает ее растворимость и высвобождение, поэтому данные, полученные в указанных средах растворения, не учитывались. Оптимальной средой растворения был признан цитратно-фосфатный буферный раствор с рН 6,8, в котором достигается наилучшее высвобождение активного ингредиента, а также действующее вещество сохраняет свою структуру.

**Ключевые слова:** вальпроевая кислота, растворение, ВЭЖХ.

### DISSOLUTION PROFILE STUDY FOR EXTENDED RELEASE VALPROIC ACID DOSAGE FORM (DEPAKINE® CHRONO)

A.A. Lvova<sup>1</sup>, Yu.E. Boldina<sup>1</sup>, I.E. Shohin<sup>1\*</sup>, T.N. Komarov<sup>1</sup>, L.A. Menshikova<sup>2</sup>, Yu.V. Medvedev<sup>1,2</sup>

**Abstract.** Dissolution profile study for extended-release valproic acid preparations was performed in three dissolution media: 0.1 M hydrochloric acid, acetate buffer pH 4.5, citrate-phosphate buffer pH 6.8 using Apparatus 1 at 75 rpm. Time points were 1, 2, 3, 4, and 6 hours. Assay of released API was performed using HPLC-UV. API did not released or slightly released in 0.1 M hydrochloric acid and acetate buffer pH 4.5 because of low solubility of valproate in acid form. Recommended dissolution medium was citrate-phosphate buffer pH 6.8 which provides high solubility, stability and complete release of API.

**Keywords:** valproic acid, dissolution, HPLC.

## ВВЕДЕНИЕ

«Руководство по экспертизе лекарственных средств» (том 1) описывает только рекомендации по исследованию кинетики растворения для лекарственных форм немедленного высвобождения (ЛФНВ). Исследования кинетики растворения для пролонгированных лекарственных средств обычно проводятся в тех же условиях, что и для ЛФНВ, если не обосновано иное [1].

При изучении кинетики растворения пролонгированных лекарственных препаратов наиболее часто используются: аппарат 1 («Вращающаяся корзинка», ВК), аппарат 2 («Лопастная мешалка», ЛМ). Условия исследования должны отражать физиологические условия в желудочно-кишечном тракте, поэтому рекомендуемая рабочая скорость вращения для ВК – 100 об/мин, для ЛМ – 50–75 об/мин. Выбор аппарата зависит от физико-химических свойств твердой дозированной лекарственной формы. Считается, что ЛМ больше подходит для оценки таблетированных ЛФ, ВК – для кап-

сул и ЛФ, которые флотируют (всплывают) или медленно распадаются [2].

В качестве среды для растворения используют растворы, значения рН которых соответствуют показателям рН в разных отделах желудочно-кишечного тракта. Если высвобождение лекарственного вещества из таблетки или капсулы должно происходить в желудке, то данный препарат будет хорошо растворяться в буферном растворе с низким значением рН. Однако лекарственные вещества, входящие в состав препарата, имеют разные физико-химические свойства, поэтому для каждого лекарственного средства (ЛС) выбирают среду для растворения с учетом его химической структуры и состава вспомогательных веществ [3].

Временные точки для лекарственных форм замедленного высвобождения должны описывать весь профиль высвобождения, при этом точек отбора для пролонгированных ЛС обычно больше, чем для ЛФНВ [4].

Целью данного исследования являлось изучение кинетики растворения препаратов вальпроевой кислоты в трех средах растворения, моделирующих основные разделы ЖКТ, в которых происходит распад, высвобождение и абсорбция активного ингредиента (0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, ацетатный буферный раствор с pH 4,5, цитратно-фосфатный буферный раствор с pH 6,8), с количественным определением методом ВЭЖХ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Исследуемый препарат

Депакин® хроно, таблетки, покрытые оболочкой, пролонгированного действия, 500 мг («Санофи Винтроп Индустрия», Франция).

**Состав:** вальпроевая кислота 145,0 мг, вальпроат натрия 333,0 мг; вспомогательные вещества: кремния диоксид коллоидный безводный, гипромеллоза, этилцеллюлоза, сахаринат натрия, кремния диоксид коллоидный гидратированный; пленочная оболочка: гипромеллоза, дисперсия полиакрилата, макрогол 6000, тальк, титана диоксид.

Ингибитор ГАМК-трансферазы повышает содержание ГАМК в ЦНС, что обуславливает снижение порога возбудимости и уровня судорожной готовности моторных зон головного мозга. Препарат легко и полностью всасывается при приеме внутрь, биодоступность составляет около 100%,  $C_{max}$  – 2 ч,  $T_{1/2}$  – 8 ч. Является противозепилептическим средством широкого спектра действия [5].

В качестве действующего вещества исследуемое лекарственное средство содержит вальпроевую кислоту: 2-пропилвалериановую кислоту (в виде натриевой соли).

Структурная формула представлена на рисунке 1.

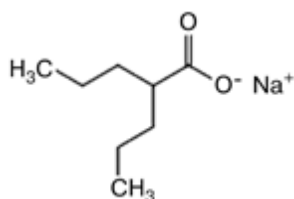


Рисунок 1. Структурная формула вальпроата натрия

Согласно опубликованным данным вальпроевая кислота относится ко 2 классу БКС [6], то есть является субстанцией с низкой растворимостью и высокой проницаемостью.

### Оборудование

- прибор для проведения теста «Растворение» Agilent 708-DS Dissolution Apparatus, Agilent Technologies, США;

- жидкостной хроматограф Agilent 1290 с диодно-матричным детектором G4212A, Agilent Technologies, США.

### Условия изучения кинетики растворения

При выборе условий теста кинетики растворения (ТКР) исходили из требований методических указаний Минздравсоцразвитие России «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» (2008) (приложение 4) [7], «Руководства по экспертизе лекарственных средств», Т. I, 2013 г. [8], и рекомендаций FDA.

Исследование проводили на аппарате «Вращающаяся корзинка» при скорости вращения 75 об/мин при температуре  $37 \pm 0,5$  °C в трех средах растворения, моделирующих основные разделы ЖКТ, в которых происходит распад, высвобождение и абсорбция активного ингредиента (0,1 М раствор хлористоводородной кислоты с pH 1,2, ацетатный буферный раствор с pH 4,5, цитратно-фосфатный буферный раствор с pH 6,8). Объем среды растворения – 900 мл. Временные точки отбора проб: 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 6 часов. Количественное определение высвободившегося вальпроата натрия проводили методом ВЭЖХ.

### Приготовление сред растворения

#### 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты

В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносили 500 мл воды очищенной, 8,7 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, доводили объем раствора до 1000 мл водой очищенной и тщательно перемешивали.

#### 0,2 М раствор уксусной кислоты

В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносили 200 мл воды очищенной, прибавляли 11,6 мл уксусной кислоты ледяной, давали раствору охладиться до комнатной температуры, доводили объем раствора до метки водой очищенной и тщательно перемешивали.

#### Ацетатный буферный раствор с pH 4,5

В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносили 2,99 г натрия ацетата тригидрата и растворяли в 200 мл воды очищенной. К полученному раствору прибавляли 14 мл 0,2 М раствора уксусной кислоты, доводили объем раствора до метки водой очищенной и тщательно перемешивали. Измеряли pH раствора на pH-метре, при необходимости доводили pH до 4,5 0,2 М раствором уксусной кислоты или 0,1 М раствором натрия гидроксида.

#### Раствор натрия фосфата двузамещенного

В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещали 71,5 г натрия фосфата двузамещенного двенадцативодного, добавляли 600 мл воды и перемешивали до растворения навески. Объем полученного раствора доводили водой до метки и перемешивали.

#### Раствор лимонной кислоты

В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещали 21,0 г лимонной кислоты, добавляли 600 мл воды и перемешивали до растворения навески. Объем полученного раствора доводили водой до метки и перемешивали.

#### Цитратно-фосфатный буферный раствор с pH 6,8

В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещали 773 мл раствора натрия фосфата двузамещенного и 227 мл раствора лимонной кислоты, перемешивали полученный раствор.

Измеряли pH раствора на pH-метре, при необходимости доводили значение pH до значения 6,8 раствором натрия фосфата двузамещенного или раствором лимонной кислоты.

#### Выполнение исследования

Тест «Растворение» проводили согласно ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение» [9] на аппарате «Вращающаяся корзина» (Agilent 708-DS Dissolution Apparatus, США) при скорости вращения 75 об/мин. В каждый из 6 сосудов для растворения с 900 мл среды растворения, предварительно термостатированными при  $37 \pm 0,5$  °C, помещали по 1 таблетке исследуемого лекарственного средства Депакин® хроно. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 5 мл среды, которые незамедлительно восполняли таким же объемом среды растворения. Отобранные пробы фильтровали через мембранные фильтры Agilent Cartiva Premium Syringe Filter® с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата (*испытываемый раствор*).

#### Количественное определение

##### Приготовление стандартного раствора

Около 80,0 мг стандартного образца вальпроата натрия помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 70 мл среды растворения. Содержимое колбы перемешивали до полного растворения навески, объем раствора доводили до метки тем же растворителем и перемешивали. Перед хроматографированием раствор фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. Материал фильтра мембран – регенерированная целлюлоза.

##### Хроматографирование

Анализ проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1290, оснащенном градиентным насосом, термостатом колонок и образцов, дегазатором, автосамплером, диодно-матричным детектором. Обработку данных проводили при помощи программного обеспечения ChemStation (ver. B.04.03), Agilent Technologies, США. Хроматографическое разделение проводили на колонке Zorbax Eclipse Plus C18, 250×4,6 мм, 5 мкм, при температуре 30 °C. В качестве подвижной фазы использовался фосфатный буферный



Жидкостной хроматограф Agilent 1290

раствор с pH 2,5 (A) / ацетонитрил (B) (60:40). Скорость потока подвижной фазы – 1,0 мл/мин. Объем вводимой пробы – 50 мкл. Детектирование – УФ-детектор при длине волны 210 нм.

Количество действующего вещества, перешедшего в раствор (X), в процентах от номинального содержания рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S \times a_0 \times 900 \times P \times 100}{S_0 \times 100 \times L \times 100},$$

где  $S_0$  – площадь пика вальпроата натрия на хроматограмме стандартного раствора;  $S$  – площадь пика вальпроата натрия на хроматограмме испытуемого раствора;  $a_0$  – навеска стандартного образца вальпроата натрия, мг;  $P$  – содержание вальпроата натрия в стандартном образце, %; 900 – объем среды растворения, мл;  $L$  – номинальная дозировка препарата, мг.

#### Программное обеспечение

- валидированная автоматическая таблица Microsoft Excel для расчета значений высвобождения исследуемого ЛВ;
- валидированное программное обеспечение для жидкостного хроматографа Agilent 1290 (OpenLAB ChemStation Edition, версия A.01.04 [025], разработчик – Agilent OpenLAB).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Усредненные значения вальпроата натрия, высвободившегося в раствор из лекарственного средства Депакин® хроно, приведены в таблице 1 и на рисунке 2.

На рисунке 3 представлена типичная хроматограмма вальпроата натрия в среде растворения цитратно-фосфатный буферный раствор с pH 6,8.

Таблица 1.

Усредненные значения вальпроата натрия, высвободившегося в раствор из лекарственного средства Депакин® хроно, таблетки, покрытые оболочкой, пролонгированного действия, 500 мг (цитратно-фосфатный буферный раствор с pH 6,8)

Среда растворения / % высвобождения	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	6 ч
цитратно-фосфатный буферный раствор с pH 6,8	21,04	32,25	41,27	48,53	59,90
RSD, %	1,91	1,36	1,26	1,22	1,29

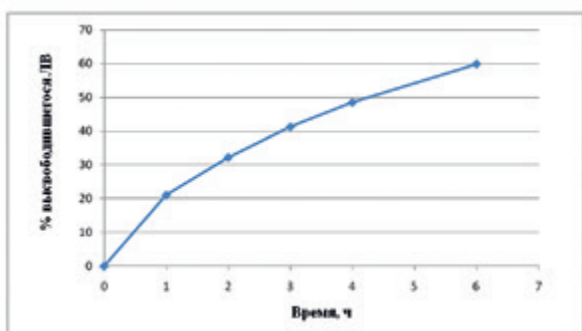


Рисунок 2. Профили высвобождения вальпроевой кислоты в среде растворения с pH 6,8

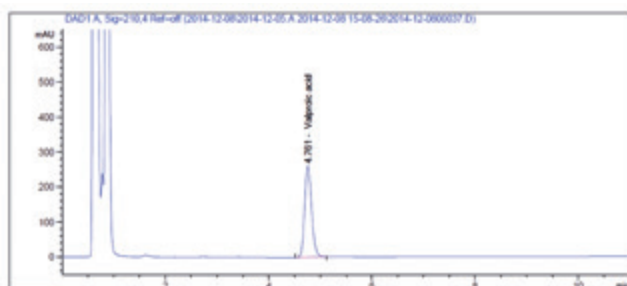


Рисунок 3. Хроматограмма пробы вальпроата натрия в цитратно-фосфатном буферном растворе с pH 6,8

Результаты исследования являются достоверными, поскольку согласно «Руководству по экспертизе лекарственных средств», Т. I, 2013 г., величина относительного стандартного отклонения (RSD, %) не должна превышать 10% для всех временных точек, за исключением первой временной точки.

В среде 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты с pH 1,2 и ацетатного буферного раствора с pH 4,5 высвобождение происходит в незначительной степени. В первую очередь это связано с переходом вальпроата натрия в вальпроевую кислоту, что приводит к снижению ее растворимости и высвобождения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен тест кинетики растворения препаратов вальпроевой кислоты в трех средах растворения, моделирующих основные разделы ЖКТ, в которых проис-

ходит распадение, высвобождение и абсорбция активного ингредиента (0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, ацетатный буферный раствор с pH 4,5, цитратно-фосфатный буферный раствор с pH 6,8), с количественным определением методом ВЭЖХ. По результатам исследования в среде 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты с pH 1,2 и ацетатного буферного раствора с pH 4,5 высвобождение происходит в незначительной степени. При проведении исследования следует учитывать то, что в средах растворения со значениями pH, близкими к значениям pH желудочного сока, вальпроат натрия переходит в неионизированную форму – вальпроевую кислоту, что существенно снижает ее растворимость и высвобождение.

## ЛИТЕРАТУРА

1. И.Е. Шохин. Сравнительный тест кинетики растворения: актуальные аспекты выполнения испытания // Научно-практическая конференция с международным участием «Сравнительный тест кинетики растворения, фармакокинетика и биоэквивалентность: актуальные новости и взгляды». Светлые горы, М.О., 2014.
2. Тест «Растворение» в разработке и регистрации лекарственных средств. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли / Под ред. И.Е. Шохина. – М.: Перо, 2015. 320 с.
3. К.С. Давыдова, Ю.И. Кулинич, И.Е. Шохин. Тест «Растворение» в контроле качества ЛС // Ремедиум. 2010. № 5. С. 42.
4. FDA dissolution database. URL: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/index.cfm> (дата обращения 15.07.2015).
5. М.Д. Машковский. Лекарственные средства. 16-е изд. – М.: Новая волна, 2012. 1216 с.
6. A. Anil Kumar, T.E. Gopala Krishna Murthy, A. Prameela Rani. A concise review on oral pH independent controlled drug delivery system // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. V. 3, Issue11, P. 311–324.
7. Методические указания Минздравсоцразвития России «Оценка биоэквивалентности лекарственных средств» (приложение 4). – М., 2008.
8. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. – М.: Гриф и К., 2013. 328 с.
9. ОФС.1.4.2.0014.15. Растворение для твердых дозированных лекарственных форм // Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд.
10. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. – Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research; 1997.