

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

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

3 – ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, 143442, Россия, Московская обл., Красногорский район, п/о Отрадное, пос. Светлые горы, владение 1

4 – ООО «АЗТ ФАРМА К.В.», 121552, Россия, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, 15А

1 – Center of Pharmaceutical Analytics Ltd., 20, Nauchnyy Proezd, Moscow, 117246, Russia

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

3 – FSBS SCBMT FMBA, 1, pos. Svetlye gory, p/o Otradnoe, Krasnogorskiy r-n, Moscow region, 143442, Russia

4 – LLC «AZT PHARMA K.V.», 15A, 3-rd Cherepkovskaya str., Moscow, 121552, Russia

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

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ИННОВАЦИОННОГО АНТИРЕТРОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА НИКАВИР® И ЕГО ФИКСИРОВАННОЙ КОМБИНАЦИИ С ЛАМИВУДИНОМ (ФОСФАЛАДИН®)

И.Е. Шохин^{1,3*}, Ю.В. Медведев^{1,2}, Т.Н. Комаров¹, О.В. Климова²,
Б.В. Бровченко⁴

Резюме. Экспериментально определена биофармацевтическая растворимость фосфазида, на основании чего он отнесен к 3 классу БКС. Изучена сравнительная кинетика растворения инновационного препарата Никавир® (таблетки 400 мг относительно таблеток 200 мг) в трех средах растворения с рН 1,2, 4,5, 6,8. Показана эквивалентность профилей исследуемых лекарственных средств. Изучена сравнительная кинетика растворения фиксированной комбинации фосфазида и ламивудина – Фосфаладин® 150 мг + 400 мг относительно препаратов Никавир® 400 мг и Эпивир® 150 мг в трех средах растворения с рН 1,2; 4,5; 6,8. Для ламивудина показана эквивалентность профилей растворения во всех средах растворения без математической оценки. Для фосфазида показана эквивалентность профилей растворения без математической оценки в среде с рН 1,2. Изученная серия препарата Фосфаладин® была рекомендована в качестве серии-клинического кандидата для последующего проведения исследования биоэквивалентности.

Ключевые слова: фосфазид, ламивудин, БКС, тест кинетики растворения, ВЭЖХ.

DISSOLUTION PROFILE STUDY FOR INNOVATION ANTI-RETROVIRAL DRUG PRODUCT NIKAVIR® AND ITS FIXED COMBINATION WITH LAMIVUDINE (PHOSPHALADINE®)

I.E. Shohin^{1,3*}, Yu.V. Medvedev^{1,2}, T.N. Komarov¹, O.V. Klimova², B.V. Brovchenko⁴

Abstract. Biopharmaceutical solubility was experimentally determined for innovation anti-retroviral API phosphazide (Nikavir®) which was classified as BCS Class 3 drug. Dissolution profile test for Nikavir® 200 mg and 400 mg in three media pH 1.2, 4.5, 6.8 was conducted, and equivalence for both dosages was shown. Also dissolution profile test for phosphazide and lamivudine fixed combination 150 mg + 400 mg (Phosphaladine®) was performed in three media pH 1.2, 4.5, 6.8 against two reference drug products Nikavir® 400 mg and Eпивир® (lamivudine) 150 mg. Dissolution profiles for lamivudine were equivalent in all three media, and phosphazide profiles were equivalent in pH 1.2. Studied batch of phosphazide and lamivudine fixed combination was recommended to be a clinical biobatch for further BE studies.

Keywords: phosphazide, BCS, dissolution profile test, HPLC.

ВВЕДЕНИЕ

Фосфазид – активный ингредиент лекарственного препарата Никавир®. Фосфазид (3'-азидо-2',3'-дидезокситимидин-5'-монофосфат натрия) – противовирусный препарат, ингибирующий обратную транскриптазу ВИЧ. Включается в вирусную ДНК, нарушает ее элонгацию, останавливая рост молекулы; ингибирует обратную транскрипцию в процессе ретровирусной репликации, блокирует ключевой процесс репликации других ретровирусов. Фосфазид хорошо всасывается из ЖКТ, относительная биодоступность – 83,7%, проходит через гемато-энцефалический барьер и плаценту, концентрация в спинномозговой жидкости составляет 15–64% дозы. Метаболизируется в печени с образованием глюкуронида, который выводится из организма почками. $T_{1/2}$ – 2,5 ч.

Фосфазид применяется при ВИЧ-инфекции в стадии вторичных заболеваний (стадии IIIA, IIIB, IIIV по классификации В.И. Покровского), в стадии острой инфекции (IIA), при первичных клинических проявлениях (IIB, IIV), при снижении уровня Т-лимфоцитов CD4 до величины менее $0,3-0,4 \times 10^9/\text{л}$ и повышении содержания РНК ВИЧ до значений более 20 тыс. копий на 1 мл (при определении методом RT PCR), в стадии инкубации (стадия I), а также как профилактическое средство [1].

Структурная формула фосфазида представлена на рисунке 1.

Ламивудин ((2R-цис)-4-Амино-1-[2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]-2(1H)-пиримидинон) применяется при ВИЧ-инфекции у взрослых и детей. Фармакологическое действие – противовирусное, ингибирующее обратную транскрип-

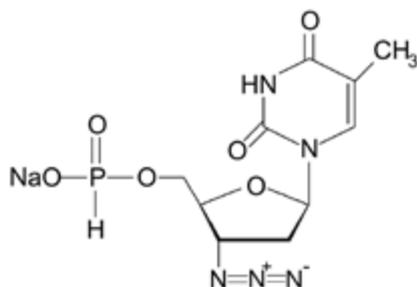


Рисунок 1. Структурная формула фосфазида

тазу ВИЧ. Ламивудин обладает вирусостатическим эффектом в отношении ВИЧ-1. Проникает в клетки, индуцированные вирусом, переходит в активную форму – ламивудин 5'-трифосфат, подавляет активность обратной транскриптазы. Ингибирует альфа-, бета- и гамма-ДНК-полимеразы.

После приема внутрь ламивудин быстро и практически полностью всасывается (абсолютная биодоступность – 86%). Связывание с белками плазмы составляет 36%; на поверхности эритроцитов адсорбируется до 57% дозы. Объем распределения – 1,3 л/кг. Подвергается незначительной (5%) биотрансформации в печени с образованием неактивного транссульфоксид метаболита. Экскретируется почками в основном в неизменном виде; частично выделяется с грудным молоком. $T_{1/2}$ составляет 3–5 ч [2].

Структурная формула ламивудина представлена на рисунке 2.

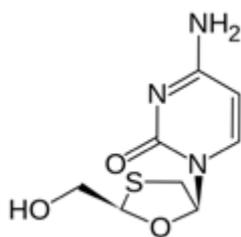


Рисунок 2. Структурная формула ламивудина

В настоящее время производится фармацевтическая разработка комбинированного лекарственного препарата Фосфаладин®, предназначенного для лечения ВИЧ-инфекции, на основе фосфазида и ламивудина. Одним из важнейших этапов разработки твердых дозированных лекарственных форм является проведение сравнительного теста кинетики растворения (СТКР), который позволяет косвенно оценить поведение препарата в ЖКТ в условиях *in vivo*. Актуальность данного исследования определяется необходимостью разработки качественных, эффективных и безопасных отечественных импортозамещающих антиретровирусных ЛС, к которым относятся Никавир® и Фосфаладин®.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести исследование кинетики растворения для инновационного лекарственного средства (Никавир®, таблетки, 200 мг и 400 мг) и его фиксированной комбинации (Фосфаладин®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 150 мг + 400 мг).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Препараты фосфазида:

Исследуемое лекарственное средство:

Никавир®, таблетки, 400 мг, производства ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия, серия 010712, годен до 07.2014 г. (далее по тексту – Никавир® 400 мг).

Состав: фосфазид – 400 мг; вспомогательные вещества (кальция карбонат осажденный – 225,5 мг, целлюлоза микрокристаллическая – 72,7 мг, кремния диоксид коллоидный – 25,5 мг, кальция стеарат – 7,3 мг).

Референтное лекарственное средство:

Никавир®, таблетки, 200 мг, производства ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия, серия 400612, годен до 06.14 г. (далее по тексту – Никавир® 200 мг).

Состав: фосфазид – 200 мг, вспомогательные вещества (кальция карбонат, целлюлоза микрокристаллическая, аэросил, кальция стеарат).

Состав исследуемых лекарственных средств является дозопропорциональным.

Препараты фосфазида и ламивудина

Исследуемое лекарственное средство:

Фосфаладин®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 150 мг + 400 мг (ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия), серия 010415, срок годности до 04.17 г. (далее по тексту – Фосфаладин® 150 мг+400 мг).

Состав: ламивудин – 150 мг, фосфазид – 400 мг; вспомогательные вещества [целлюлоза микрокристаллическая силицированная – 55,0 мг (микрокристаллическая целлюлоза – 98%, кремния диоксид коллоидный – 2%) (Ph. Eur. или USP/NF), натрия стеарилфумарат – 3,0 мг (Ph. Eur. или USP/NF), кальция стеарат – 3,0 мг (USP/NF)]. Состав оболочки: пленочное покрытие Вивакоат® PM-2P-000 – 18,0 мг, гипромеллоза – 9,0 мг (Ph. Eur., или USP/NF, или E464), титана диоксид – 4,5 мг (Ph. Eur., или E171), оксид железа желтый – 0,9 мг (USP/NF или E172), тальк – 1,8 мг, (USP/NF или Ph. Eur, или E553b), гипролоза – 0,9 мг (Ph. Eur., или USP/NF), макрогол-3350 – 0,9 мг (Ph. Eur., или USP/NF).

Референтное лекарственное средство № 1:

Эпивир®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 150 мг («ГлаксoСмитКляйн Фармасьютикалз С.А.», Польша), серия УН0420, срок годности до 06.18 г. (далее по тексту – Эпивир® 150 мг).

Состав: ламивудин, 150 мг; вспомогательные вещества [микрокристаллическая целлюлоза, карбоксиметилкрахмал натрия (натрия крахмала гликолят), магния стеарат, Opadry® YS-1-7706-G (гипромеллоза 59, титана диоксид, макрогол – 400 (полиэтиленгликоль – 400), полисорбат 80)].

Референтное лекарственное средство №2:

Никавир®, таблетки, 400 мг (ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия), серия 010415, срок годности до 04.17 г.

Состав: фосфазид 400 мг; вспомогательные вещества [кальция карбонат (осажденный), целлюлоза микрокристаллическая, кремния диоксид коллоидный (аэросил), кальция стеарат].

В качестве действующих веществ исследуемое и референтное лекарственные средства содержат фосфазид (натрий 3'-азидо-3'-дезокситимидин-5'-водородфосфонат) и ламивудин (4-амино-1-[(2R, 5S)-2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил]-1,2-дигидропиримидин-2-он).

Все лекарственные средства были предоставлены ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия.

Оборудование

Сравнительный тест кинетики растворения проводили на аппаратах Agilent Technologies 708-DS Dissolution Apparatus (США) и Erweka DT 800-1000LH, (Германия). Определение биофармацевтической растворимости субстанций проводили на термостатируемом шейкере TS-100, Biosan, Латвия. Количественное определение высвободившегося лекарственного вещества проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1290 Infinity II с диодно-матричным УФ-детектором (Agilent Technologies, США) и программным обеспечением OpenLAB ChemStation Edition, версия С.01.07.

Растворы и реактивы

В работе использовались реактивы: хлористоводородная кислота концентрированная («Сигма Тек», Россия, класс «х.ч.»), аммония ацетат (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), натрия ацетат тригидрат (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), уксусная кислота ледяная (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), натрия гидрофосфата дигидрат (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), калия дигидрофосфат (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), фосфорная кислота 85% (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), натрия гидроксид (Panreac, Испания, класс «х.ч.»), натрия хлорид (Scharlau, Испания, класс «х.ч.»), ацетонитрил (Scharlau, Испания, HPLC grade), вода деионизированная (18,2 мОМ). Растворы для сред растворения готовили в соответствии с ГФ XIII издания, USP 30-NF 25 и JP 15 [3, 4].



Agilent Technologies 708-DS Dissolution Apparatus



ERWEKA DT 820

Стандартные образцы

- стандартный образец фосфазид (Никавир®, ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия, содержание фосфазид 99,5%, серия 011214, годен до 12.2016 г.);
- стандарт ламивудина (European Pharmacopoeia Reference Standard, CRS, содержание ламивудина 99,7%, серия Y0000425).

Стандартные образцы были предоставлены ООО «АЗТ ФАРМА К.Б.», Россия.



Agilent 1290 Infinity II

Изучение биофармацевтической растворимости субстанции фосфазида

Около 50 мг (точная навеска) субстанции фосфазида вносили в полипропиленовые центрифужные пробирки типа Eppendorf вместимостью 1,5 мл и прибавляли 1000 мкл соответствующей среды растворения. Пробирки помещали в термошейкер и встряхивали в течение 12 ч при температуре 37,0 °С при 1400 об/мин, далее незамедлительно центрифугировали при 13500 об/мин в течение 10 мин и отделяли надосадочную жидкость. Для каждой среды растворения испытание проводили в трех повторностях. Параллельно проводили термостатирование в течение 12 ч для стандартных растворов в каждой из сред растворения для оценки стабильности субстанции фосфазида в условиях изучения биофармацевтической растворимости.

Для количественного определения надосадочную жидкость разводили в 1000 раз соответствующей средой растворения. 100 мкл надосадочной жидкости переносили в полипропиленовые пробирки вместимостью 10 мл, прибавляли 9,9 мл соответствующего буферного раствора и перемешивали на вортекс-шейкере в течение 1 мин. 1 мл полученного раствора переносили в полипропиленовые пробирки вместимостью 10 мл, прибавляли 9 мл соответствующего буферного раствора и снова перемешивали на вортекс-шейкере в течение 1 мин.

Количественное содержание растворившегося фосфазида проводили методом ВЭЖХ.

Хроматографические условия:

Колонка: Eclipse Plus C18, 150 x 4,6 мм, 5 мкм. Предколонка Eclipse Plus C18 Guard Cartridge, 12,5 x 4,6 мм.

Температура колонки: 30±2 °С.

Температура образца: 20±2 °С.

Объем пробы: 10 мкл.

Скорость потока: 1 мл/мин.

Подвижная фаза: 0,05 М раствор ацетата аммония – ацетонитрил (7 : 1).

Детектор: УФ, 265 нм.

Время хроматографирования: 11 мин.

Время удерживания фосфазида: около 3 мин.

Для оценки биофармацевтической растворимости никавира в каждой из сред проводили расчет отношения дозы к растворимости (D/S), которое рассчитывали по формулам, рекомендованным ВОЗ и FDA:

$$D/S = D_{\max}/S \text{ и } D/S = ВРД/S,$$

где D/S – отношения дозы к растворимости, мг; D_{\max} – максимальная дозировка лекарственного средства (ЛС), зарегистрированная в РФ к медицинскому применению; ВРД – высшая разовая доза ЛС.

Растворимость лекарственного вещества (ЛВ) считается «высокой», если значение величины D/S составляет не менее 250 мг.

Изучение сравнительной кинетики растворения препаратов Никавир® и Фосфаладин®

Тест «Растворение» проводили на аппарате «Вращающаяся корзинка» при скорости вращения 100 об/мин при температуре 37±0,5 °С. Условия сравнительного теста кинетики растворения были подобраны экспериментальным путем. Исследование проводили в трех средах растворения (рН 1,2, 4,5, 6,8), моделирующих основные разделы ЖКТ, в которых происходит распад, высвобождение и абсорбция активного ингредиента. Временные точки отбора проб (10 мин, 15 мин, 20 мин и 30 мин) выбраны таким образом, чтобы полностью описать профиль растворения исследуемых ЛС с выходом на полное высвобождение (не менее 85%) или плато. В качестве аппарата была выбрана «Вращающаяся корзинка» для предотвращения залипания частиц препарата на стенке сосуда для растворения. Скорость вращения (100 об/мин) была выбрана как оптимальная скорость вращения аппарата «Вращающаяся корзинка» для ЛФНВ. Объем среды растворения (900 мл) был выбран таким образом, чтобы обеспечить «условия предельного разбавления» (*sink conditions*), кото-

рые обеспечивают полное растворение дозировки ЛС в данном объеме среды.

Рассчитывали среднее значение количества растворившейся субстанции (или субстанций) и величину относительного стандартного отклонения RSD, %. Достоверность результатов оценивали по величине относительного стандартного отклонения, величина которого не должна превышать 20% для первой временной точки и 10% – для остальных временных точек.

При высвобождении более 85% действующего вещества в течение 15 мин кинетика растворения считалась эквивалентной без математической оценки.

В случае если в течение 15 мин высвобождалось менее 85% действующего вещества, для оценки эквивалентности кинетики растворения ЛС производили расчет фактора сходимости f_2 по следующему уравнению:

$$f_2 = 50 \times \log_{10} \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{i=1}^{i=n} (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\},$$

где n – число временных точек (не считая нуля); R_t – среднее значение высвобождения фармацевтической субстанции из референтного препарата на момент времени t , %; T_t – среднее значение высвобождения фармацевтической субстанции из исследуемого препарата на момент времени t , %.

Сравнительный тест кинетики растворения для препаратов Никавир® 200 мг и 400 мг

На момент проведения исследования препарат Никавир® 200 мг был зарегистрирован к медицинскому применению в РФ. Для дополнительной дозировки (400 мг) лекарственного средства необходимо было провести изучение его кинетики растворения и оценки эквивалентности его профиля растворения с основной дозировкой лекарственного средства.

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 Никавир® 400 мг. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 5 мл среды, который незамедлительно восполняли таким же объемом среды растворения. Отобранные пробы фильтровали через фильтры типа Agilent Captiva Premium Syringe Filter® с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. Параллельно и аналогичным образом проводили исследование референтного лекарственного средства Никавир® 200 мг.

Количественное определение проводили методом ВЭЖХ при условиях, приведенных для СТКР для препаратов Фосфаладин® 150+400 мг и Эпивир® 150 мг + Никавир® 400 мг.

Сравнительный тест кинетики растворения для препаратов Фосфаладин® 150+400 мг и Эпивир® 150 мг + Никавир® 400 мг

Данное исследование сравнительной кинетики растворения проводилось с целью подтверждения эквивалентности в условиях *in vitro* для исследуемого и референтного препарата для выбора серии клинического кандидата и последующего проведения исследования биоэквивалентности для препарата Фосфаладин® 150+400 мг, являющегося фиксированной комбинацией. Для наиболее достоверного моделирования поведения препаратов Эпивир® 150 мг и Никавир® 400 мг в условиях *in vitro* обе лекарственные формы помещались в сосуд для растворения одновременно, поскольку при проведении соответствующего исследования БЭ планируется одновременный прием обоих препаратов добровольцами. В случае отдельного изучения кинетики растворения препаратов Эпивир® 150 мг и Никавир® 400 мг может не быть учтено взаимное влияние вспомогательных вещества каждого из препаратов на растворимость соответствующих субстанций, которая может потенциально как увеличиться, так и снизиться.

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 Фосфаладин® 150+400 мг. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 5 мл среды, которые незамедлительно восполняли таким же объемом среды растворения. Отобранные пробы фильтровали через мембранные фильтры Agilent Captiva Premium Syringe Filter® с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. Затем 2,0 мл полученного фильтрата переносили в мерную колбу вместимостью 5 мл, довели объем раствора водой до метки и перемешивали (испытуемый раствор). Параллельно и аналогичным образом проводили исследование референтных лекарственных средств Эпивир® 150 мг и Никавир® 400 мг, которые помещали в корзинку одновременно. Испытание проводили на 12 единицах каждого лекарственного средства.

Количественное определение

Количество фосфазида и ламивудина, перешедших в раствор, определяли методом ВЭЖХ с УФ-детектированием. На хроматограммах измеряли площади пиков ламивудина и фосфазида.

Условия хроматографирования

Подвижная фаза А: смесь 0,03 М раствора аммония уксуснокислого с рН 3,8 и ацетонитрила в соотношении 95:5.

Подвижная фаза В: ацетонитрил.

Условия хроматографирования

Колонка	Zorbax Eclipse plus, 150x4,6 мм, заполненная сорбентом Luna C18(2) с размером частиц 5 мкм
ПФ	А: 0,03 М раствор аммония ацетата с рН 3,8 – ацетонитрил (95:5) В: ацетонитрил
Скорость потока	1,0 мл/мин
Температура колонки	30 °С
Детектор	УФ, 270 нм
Объем вводимой пробы	10 мкл
Время анализа	8 мин

Программа градиента:

Время, мин	ПФ А, %	ПФ В, %
0–3	90	10
3–3,5	90 → 75	10 → 25
3,5–5,5	75	25
5,5–6	75 → 90	25 → 10
6–8	90	10

Время удерживания ламивудина – около 2,3 мин, фосфазида – около 3,2 мин.

Количество ламивудина или фосфазида, перешедших в раствор из таблетки, в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \times a_0 \times 900 \times 5 \times 5 \times P}{S_0 \times L \times 100 \times 10 \times 2} = \frac{S_x \times a_0 \times 45 \times P}{S_0 \times L \times 4},$$

где S_0 – площадь пика ламивудина или фосфазида на хроматограмме стандартного раствора; S_x – площади пика ламивудина или фосфазида на хроматограмме испытуемого раствора; a_0 – навеска стандарта ламивудина или фосфазида, взятая для приготовления стандартного раствора, мг; L – нормируемое содер-

жание ламивудина или фосфазида в одной таблетке, мг; P – чистота стандартов ламивудина или фосфазида, %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биофармацевтическая классификация фосфазида

Данные о биофармацевтической классификации и, соответственно, биофармацевтической растворимости фосфазида в литературе отсутствуют, в связи с этим для последующего исследования кинетики растворения и подбора оптимальных условий теста необходимо экспериментальным путем установить биофармацевтическую растворимость и класс фосфазида по БКС. Исходя из структуры молекулы, представляющей собой натриевую соль замещенной фосфористой кислоты, можно предположить «высокую» растворимость фосфазида в водных растворах в физиологическом диапазоне рН, однако для инновационных молекул необходимо экспериментальное определение биофармацевтической растворимости для точного установления класса по БКС.

При изучении биофармацевтической растворимости было установлено, что навески субстанции фосфазида (50 мг) полностью растворились в 1000 мкл каждой из сред растворения с рН 1,2, 4,5, 6,8. В связи с этим было принято, что биофармацевтическая растворимость фосфазида в физиологическом диапазоне рН превышает 5% (50 мкг/мл). Рассчитанные величины D/S и биофармацевтическая растворимость фосфазида приведены в таблице 1. Кроме того, при изучении стабильности фосфазида в средах растворения с рН 1,2, 4,5, 6,8 при 37 °С в рамках исследования биофармацевтической растворимости было показано, что степень дегградации фосфазида до азидотимидина в течение 12 ч в каждой из трех сред растворения не превышала 2%, несмотря на наличие в составе молекулы сложноэфирной связи с неорганической (фосфористой) кислотой. Таким образом, можно сделать предположение, что фосфазид обладает «высокой» биофармацевтической растворимостью и стабильностью в физиологических условиях ЖКТ.

По результатам фармакокинетических исследований, приведенных в литературе, относительная биодоступность фосфазида при пероральном применении составляет 83,7% [5]. Данная величина биодоступности позволяет охарактеризовать кишечную проницаемость фосфазида как «низкую» (критерий приемлемости: не менее 85%). Принимая во внимание «высокую» биофармацевтическую растворимость и «низкую» кишечную проницаемость фосфазида, его следует отнести к III классу БКС. Для препаратов III класса БКС, как и для I класса БКС, ожидается полное

высвобождение (более 85%) в каждой из сред растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8 при проведении исследования кинетики растворения.

Таблица 1.

Оценка биофармацевтической растворимости субстанции фосфазида

Среды растворения	D/S (D _{max} =400 мг)	D/S (ВРД = 400 мг)	Растворимость
0,1 М раствор хлористоводородной кислоты + 0,2% натрия хлорида pH 1,2	< 8	< 8	«высокая»
ацетатный буферный раствор pH 4,5	< 8	< 8	«высокая»
фосфатный буферный раствор pH 6,8	< 8	< 8	«высокая»

Биофармацевтическая классификация ламивудина

Ламивудин представляет собой производное дигидропиримидин-2-она и содержит в составе молекулы первичную аминогруппу, которая определяет его слабоосновные свойства (рКа 4,3). Согласно литературным данным, ламивудин имеет «высокую» биофармацевтическую растворимость в физиологическом диапазоне pH и абсолютную биодоступность на уровне 82–88%. Принимая во внимание критерий ВОЗ для «высокой» кишечной проницаемости (более 85%), ламивудин следует отнести к 3 классу БКС (на границе с 1 классом БКС по проницаемости). Следует отметить, что на ламивудин подготовлена «монография по био-вейверу» FIP, которая относит его именно к 3 классу БКС [6]. В связи с этим, так же как и для фосфазида, для ламивудина ожидается полное высвобождение (более 85%) при проведении СТКР в средах растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8.

Результаты исследования СТКР препаратов Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг

Профили растворения лекарственных средств Никавир® 400 мг и Никавир® 200 мг приведены на рисунках 3–5.

По результатам исследования СТКР было установлено, что выбор временных точек (10, 15, 20, 30 мин) является обоснованным, поскольку позволил полностью описать профиль растворения (до полного высвобождения более 85% или с выходом на плато). Результа-

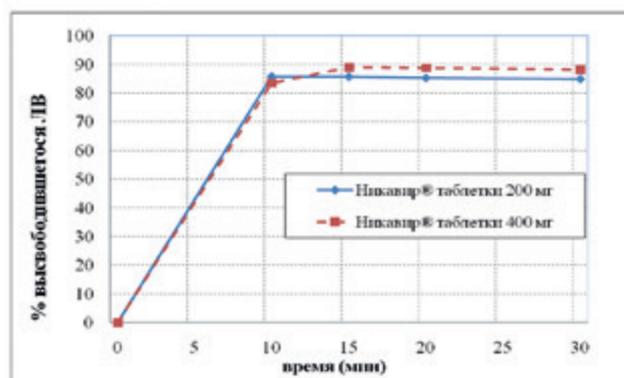


Рисунок 3. Усредненные профили растворения лекарственных средств Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг (0,1 М HCl)

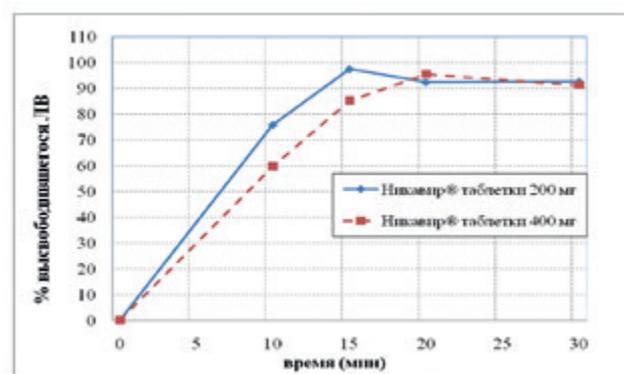


Рисунок 4. Усредненные профили растворения лекарственных средств Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг (буферный раствор с pH 4,5)

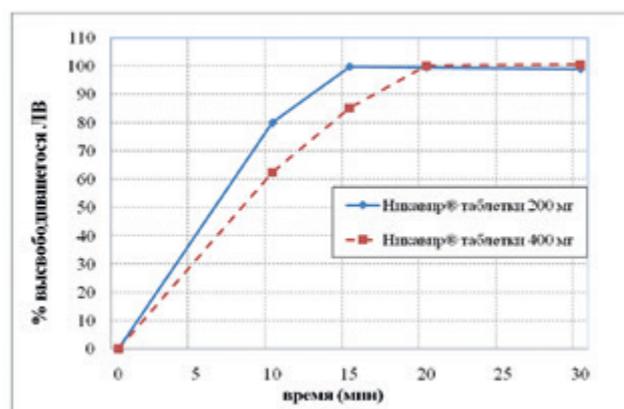


Рисунок 5. Усредненные профили растворения лекарственных средств Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг (буферный раствор с pH 6,8)

ты СТКР были признаны достоверными на основании расчета величин RSD, которые составили не более 20% для первой временной точки и не более 10% для остальных. Среднее значение количества фосфазида, высвободившегося в течение 15 мин в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты из лекарственно-

го средства Никавир® 200 мг, составило 85,64%, из лекарственного средства Никавир® 400 мг – 89,05%; в буферном растворе с pH 4,5 из лекарственного средства Никавир® 200 мг составило 97,45%, из лекарственного средства Никавир® 400 мг – 85,24%; в буферном растворе с pH 6,8 из лекарственного средства Никавир® 200 мг составило 99,84%, из лекарственного средства Никавир® 400 мг – 85,12% (т.е. более 85%), что позволило сделать заключение об эквивалентности кинетики растворения фосфазида без математической оценки в каждой из трех сред растворения. Таким образом, поскольку профиль растворения дополнительной дозировки препарата Никавир® (таблетки 400 мг) является эквивалентным таковому для основной дозировки препарата (таблетки 200 мг), а состав вспомогательных веществ у препаратов является дозопропорциональным, можно сделать заключение об аналогичном поведении в условиях *in vivo* для дополнительной дозировки препарата.

Результаты исследования СТКР препаратов Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг + Эпивир® 150 мг

Профили растворения лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Никавир® 400 мг и Эпивир® 150 мг приведены на рисунках 6–11.

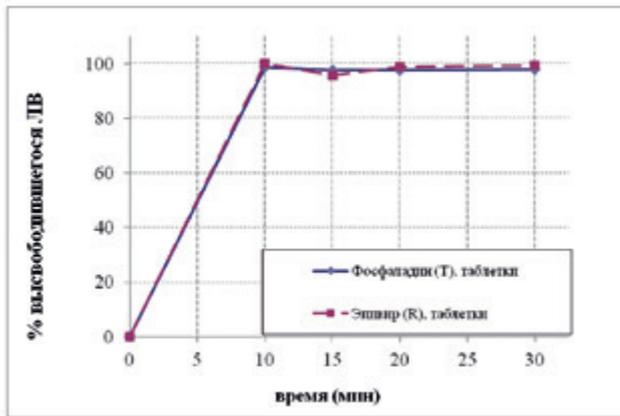


Рисунок 6. Усредненные профили растворения ламивудина из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Эпивир® 150 мг (pH 1,2)

Хроматограмма, демонстрирующая хроматографическое разделение фосфазида и ламивудина, представлена на рисунке 12.

По результатам исследования СТКР было установлено, что выбор временных точек (10, 15, 20, 30 мин) является обоснованным, поскольку позволил полностью описать профиль растворения (до полного высвобождения более 85% или с выходом на плато). Для ламивудина наблюдалось полное высвобождение уже на 10 мин во всех трех средах рас-

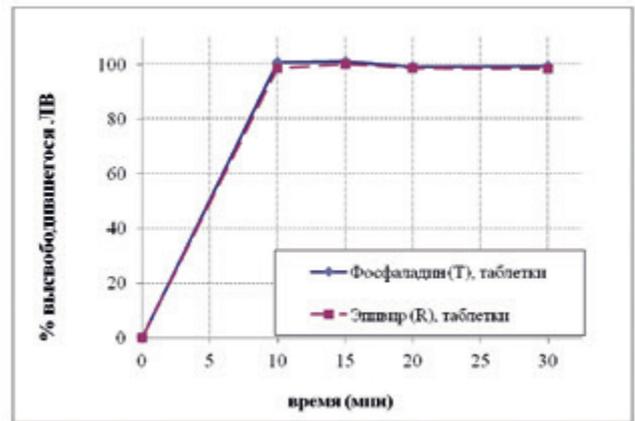


Рисунок 7. Усредненные профили растворения ламивудина из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Эпивир® 150 мг (pH 4,5)

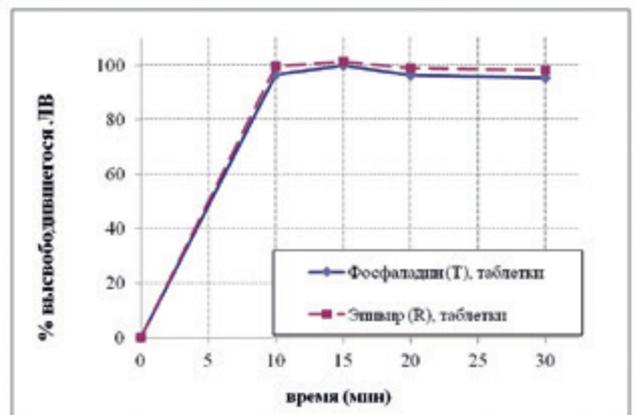


Рисунок 8. Усредненные профили растворения ламивудина из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Эпивир® 150 мг (pH 6,8)

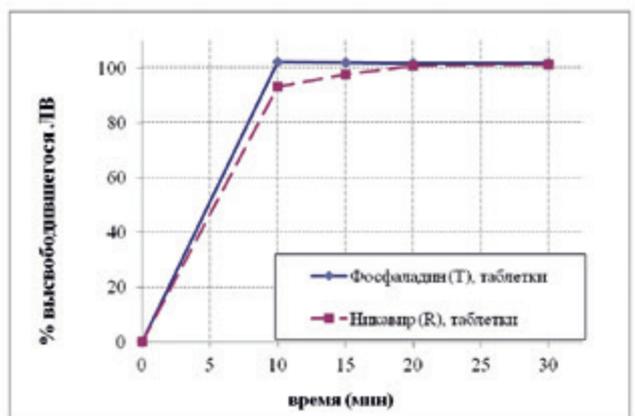


Рисунок 9. Усредненные профили растворения фосфазида из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг (pH 1,2)

ворения как для исследуемого, так и для референтного препарата. Для фосфазида в среде с pH 1,2 наблюдалось полное высвобождение к 10–20 мин из препаратов Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Никавир®

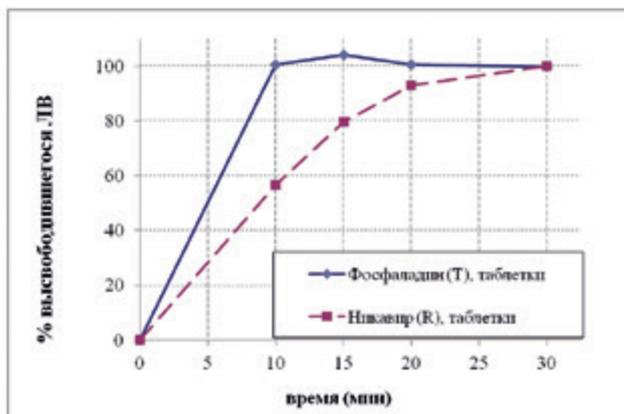


Рисунок 10. Усредненные профили растворения фосфазида из лекарственных средств Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг (рН 4,5)

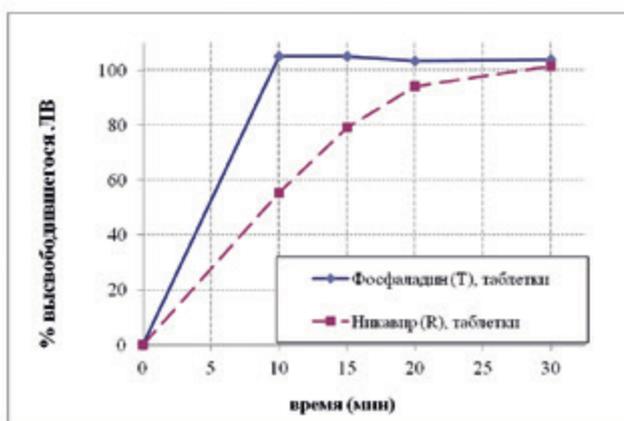


Рисунок 11. Усредненные профили растворения фосфазида из лекарственных средств. Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг (рН 6,8)

400 мг. Для сред растворения с рН 4,5 и 6,8 для препарата Никавир® 400 мг наблюдалось плавное высвобождение (кривая с насыщением) с полным высвобождением к 30 мин, при этом для препарата

Фосфаладин® в данных средах наблюдалось полное высвобождение уже к 10 мин.

Результаты СТКР препаратов Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Никавир® 400 мг + Эпивир® 150 мг были признаны достоверными на основании расчета величин RSD, которые составили не более 20% для первой временной точки и не более 10% для остальных.

Следует отметить, что профили растворения препарата Никавир® 400 мг для рН 4,5 и 6,8 при проведении СТКР Никавир® 200 мг и Никавир® 400 мг и СТКР Никавир® 400 мг и Фосфаладин® 150 мг + 400 мг были сходные (плавная кривая с насыщением). Условия данного СТКР Фосфаладин® 150 мг+400 мг и Никавир® 400 мг + Эпивир® 150 мг были полностью идентичными, за исключением того, что референтные препараты одновременно помещались в корзинку для растворения. Было выяснено, что при наличии в стакане для растворения только препарата Никавир® 400 мг полное высвобождение фосфазида достигалось к 20 мин, а в присутствии Эпивира® 150 мг – к 30 мин. Это свидетельствует о том, что присутствие ламивудина, каких-либо вспомогательных компонентов или веществ оболочки препарата Эпивир® 150 мг незначительно снижает скорость высвобождения фосфазида в средах с рН 4,5 и 6,8, при этом не препятствуя его полному высвобождению. Кроме того, причиной незначительного снижения скорости высвобождения фосфазида при совместном присутствии в корзинке с таблеткой препарата Эпивир® является снижение площади контакта таблетки Никавира® со средой растворения, а также прочностью таблетки Никавира® и наличием в ее составе большого количества гидрофобных вспомогательных веществ, что связано с технологическими особенностями ее получения.

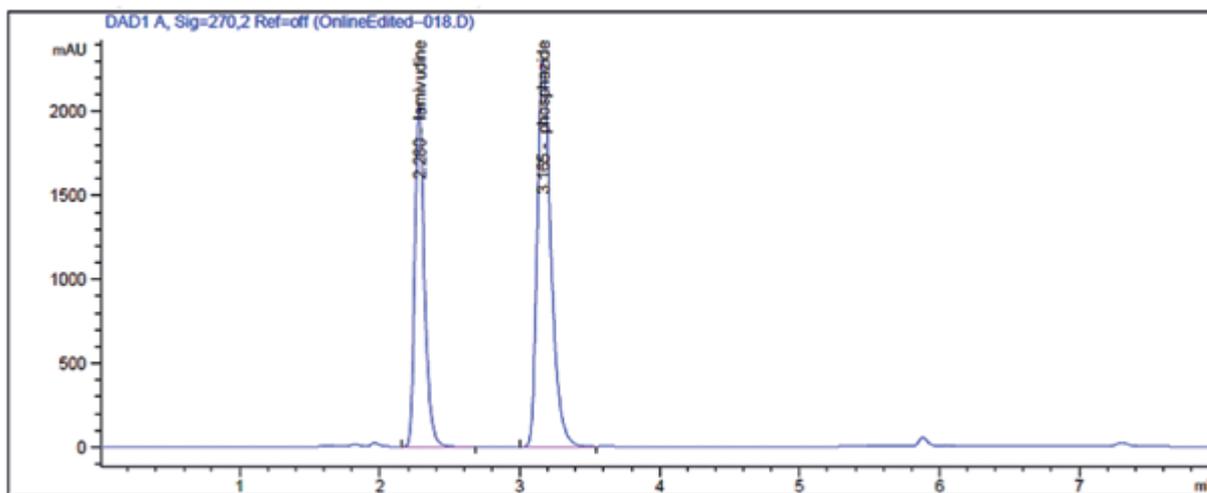


Рисунок 12. Типичная хроматограмма фосфазида и ламивудина при совместном присутствии

Для препаратов Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Эпивир® 150 мг во всех трех средах кинетика растворения признана эквивалентной без математической оценки по ламивудину (высвобождение более 85% в течение 15 мин).

Для препаратов Фосфаладин® 150 мг + 400 мг и Никавир® 400 мг в среде растворения с pH 1,2 кинетика растворения признана эквивалентной без математической оценки по фосфазиду. В среде фосфатного буферного раствора с pH 6,8 и ацетатного буферного раствора с pH 4,5 кинетика растворения признана неэквивалентной на основании расчетов факторов сходимости, значения которых составили 26,61 и 24,23 соответственно.

Неэквивалентность профилей растворения наблюдается только для фосфазиды в средах растворения с pH 4,5 и 6,8 (что предположительно связано с соотношением массовых долей АФС/ВВ в исследуемых ЛС, которое является очень высоким у препарата Фосфаладин® 150 мг+400 мг и составляет 89:11), при этом в среде с pH 1,2 наблюдается эквивалентность профилей растворения без математической оценки, при этом полное высвобождение действующего вещества наблюдается уже спустя 10 мин после начала испытания. Очевидно, что в условиях *in vivo* полное высвобождение фосфазиды из лекарственной формы происходит уже в желудке (соответствует среде pH 1,2) как для исследуемого (Фосфаладин® 150 мг+400 мг), так и для референтного (Никавир® 400 мг) препарата. Таким образом, можно предположить биоэквивалентность исследуемых ЛС в условиях *in vivo* и рекомендовать данные серии ЛС в качестве серий клинических кандидатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально определена биофармацевтическая растворимость фосфазиды в физиологическом диапазоне pH 1,2-6,8, которая была определена как «высокая». На основании экспериментальных данных по биофармацевтической растворимости и литературных данных по проницаемости («низкая») фосфазид был отнесен к 3 классу БКС. Ламивудин на основании литературных данных был также отнесен к 3 классу БКС. Изучена сравнительная кинетика растворения инновационного препарата Никавир® (таблетки 200 мг относительно таблеток 400 мг) в трех средах растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8. Показана эквивалентность профилей исследуемых ЛС без математической оценки. Изучена сравнительная кинетика растворения фиксированной комбинации фосфазиды и ламивудина – Фосфаладина® 150 мг+400 мг относительно препаратов Никавир® 400 мг и Эпивир® 150 мг в трех средах растворения с pH 1,2, 4,5, 6,8. Для ламивудина показана эквивалентность профилей

растворения во всех средах растворения без математической оценки. Для фосфазиды показана эквивалентность профилей растворения без математической оценки в среде с pH 1,2, и неэквивалентность в средах с pH 1,2 и 4,5 на основании расчета фактора сходимости (26,61 и 24,23 соответственно). Поскольку в условиях *in vivo* полное высвобождение фосфазиды из лекарственной формы происходит уже в желудке (соответствует среде с pH 1,2) как для исследуемого (Фосфаладин® 150 мг+400 мг), так и для референтного (Никавир® 400 мг) препарата, можно предположить биоэквивалентность исследуемых ЛС в условиях *in vivo* и рекомендовать данные серии ЛС в качестве серий клинических кандидатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Регистр лекарственных средств России: РЛС. Энциклопедия лекарств. URL: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_3057.htm (дата обращения 11.04.2016).
2. Электронная версия справочника «Регистр лекарственных средств России». URL: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2338.htm (дата обращения 11.04.2016).
3. United States Pharmacopoeia 38-NF 33.
4. The Japanese Pharmacopoeia 16. 2007.
5. Инструкция по медицинскому применению препарата Никавир®.
6. S. Strauch et al. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Lamivudine // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2011. V. 100. № 6. P. 2054–2063.