

## ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ РАСТВОРЕНИЯ ПРЕПАРАТА ИНТЕЛЕНС®

С. А. Золотов, Е. С. Пономарев, И. А. Даин, А. С. Золотова

ООО «АМЕДАРТ»

Поступила в редакцию 29.04.2021 г.

**Аннотация.** Этравирин (ETR, TMC125) – нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы (ННИОТ), применяемый при антиретровирусной терапии. Фармацевтическая субстанция (ФС) относится к IV классу биофармацевтической классификационной системы (БКС): имеет низкую растворимость в воде и проницаемость. Оригинальный лекарственный препарат (ЛП) выпускается под торговым названием Интеленс®. Для улучшения растворимости и биодоступности ФС ETR при производстве ЛП применяется технологический метод образования твердой дисперсии ФС – водорастворимый полимер (гидрооксипропилметилцеллюлоза).

В открытых источниках отсутствует информации о кинетике растворения ЛП Интеленс® в средах с физиологическим значением pH, с pH 1.2, 4.5, 6.8. Эти данные, позволят проводить исследование эквивалентности лекарственных препаратов (ЛП) по процедуре «биоэвивер», что позволит облегчить разработку и вывод на рынок воспроизведенных ЛП.

Целью работы являлось изучение кинетики растворения препарата Интеленс®, таблетки 200 мг. Объектом изучения был ЛП Интеленс® таблетки, 200 мг, в количестве 5 серий. В течение всего времени эксперимента в водных средах с физиологическим значением pH во временных точках 5, 10, 20, 30, 45 и 60 минут наблюдался рост градиента концентрации ФС ETR. В точке 90 минут значения соответствовали точке растворения 60 минут. При pH 1.2 и 6.8 наблюдались одинаковые значения высвобождения 0.8 % (1.847 и 1.798 мкг/мл, соответственно), а в среде ацетатного буфера с pH 4.5 наблюдалось максимальное растворение ФС ETR – 6.3 % (13.991 мкг/мл).

Таким образом, в работе была изучена кинетика растворения ЛП Интеленс® таблетки, 200 мг в водных средах в физиологическом интервале значений pH на выборке, состоящей из 5 серий ЛП, с использованием разработанного точного и чувствительного метода ОФ-ВЭЖХ для количественного определения ФС ETR.

**Ключевые слова:** этравирин, кинетика растворения, ВЭЖХ.

Этравирин (ETR, TMC125) – нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы (ННИОТ), разработанный для ингибирования ННИОТ-резистентного вируса иммунодефицита человека – ВИЧ-1 (рис. 1) [1].

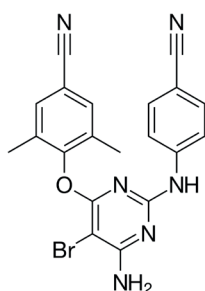


Рис. 1. Структурная формула этравирина

© Золотов С. А., Пономарев Е. С., Даин И. А., Золотова А. С., 2022

В январе 2008 года Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) одобрило его применение, сделав его тридцатым препаратом против ВИЧ. ETR является первым препаратом ННИОТ нового поколения, демонстрирующим эффективность в терапии у ВИЧ-инфицированных людей с ННИОТ-резистентным вирусом [2]. Спектр активности ETR объясняется его способностью блокировать обратную транскриптазу ВИЧ разными механизмами действия [3].

Фармацевтическая субстанция (ФС) ETR относится к IV классу биофармацевтической классификационной системы (БКС): имеет низкую растворимость в воде и проницаемость [4].

Коммерчески доступный лекарственный препарат (ЛП) ETR на основе твердой дисперсии

(ТД), ФС – водорастворимый полимер, выпускается под торговым названием Интеленс®. ЛП был изобретен компанией «Тиботек». В настоящее время «Тиботек» включена в одно из подразделений компании «Янссен», который является частью глобальной корпорации «Джонсон & Джонсон». Использование ТД является одной из возможных технологий для улучшения растворимости, и возможного увеличения биодоступности лекарственных средств (ЛС) [5-6].

Механизм повышения растворимости объясняется снижением кристалличности плохо растворимых ФС за счет их включения в носитель, как правило в фармацевтической промышленности используются водорастворимые полимеры, где частицы вещества в ЛС имеют меньший размер и аморфизированное состояние [7-8].

ТД, подвергаясь воздействию водной среды, диспергируется в виде мелких коллоидных частиц, имеющих большую площадь поверхности, что приводит к повышению скорости растворения [9-10]. В ЛП Интеленс® в качестве такого водорастворимого полимерного носителя выступает гидроксипропилметилцеллюлоза [11].

Стоит отметить, что в различных исследованиях [4, 12-15] описано применение метода ОФ-ВЭЖХ с использованием УФ-детектирования для количественной оценки растворимости ETR, но, к сожалению, в открытых источниках нет никакой информации о данных по кинетике растворения Интеленс®, таблетки 200 мг, в водных средах в физиологическом интервале pH, с pH 1.2, 4.5, 6.8. Эти данные, позволят проводить исследование эквивалентности лекарственных препаратов (ЛП) по процедуре «биоэвейвер». Данная процедура позволяет заменить ресурсозатратные *in vivo* тесты сравнением кинетики растворения оригинального и воспроизведенного ЛП *in vitro*, что облегчает разработку и вывод на рынок последних, тем самым делая ЛП более доступными для потребителя [16].

В литературе указаны временные точки и среда растворения для проведения контроля каче-

ства ЛП Интеленс® таблетки, рекомендуемая FDA (Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов, США), но не указаны способы детектирования ФС ETR [17].

Для количественного определения ФС ETR в водных средах в физиологическом интервале значений pH и среды для контроля качества ЛП Интеленс® таблетки разработали аналитический метод обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) с использованием флуориметрического детектора.

Объектом изучения были таблетки Интеленс® таблетки, 200 мг, состав которых представлен в таблице 1.

Целью работы являлось изучение кинетики растворения препарата Интеленс®, таблетки 200 мг.

Для этого были поставлены следующие задачи:

- провести тест растворения ЛП в водных средах с различным физиологическим значением pH и произвести отбор проб в определенных временных точках, рекомендованных FDA;
- разработать методику количественного определения ФС ETR в водных средах в физиологическом интервале значений pH с применением обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) и использованием флуориметрического детектора;
- провести валидацию разработанной методики по характеристикам: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность и прецизионность (повторяемость) согласно ОФС.1.1.0012.15.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Стандартный образец этравирин, MSN Life Sciences Private Limited (Индия), серия № EV0101118); ЛП Интеленс® таблетки, 200 мг, «Янссен-Силаг С.п.А» (Италия) (серии: JDL0M00, JGL0N00, JFL0V00, JGL0900, JFL1J01);

Водные среды с различным pH (0.06 М раствор соляной кислоты, pH 1.2, ацетатный буфер-

Таблица 1

Состав ЛП Интеленс® таблетки, 200 мг.

Компонент	Функция	Содержание на одну таблетку, мг
Этравирин	Активное вещество	200.0
Вспомогательные вещества		
ГПМЦ	Водорастворимый полимер	600.0
Кремния диоксид коллоидный	Глидант	2.8
Кроскармеллоза натрия	Дезинтегрант	70.0
Стеарат магния	Лубрикант	7.0
Силиконизированная микрокристаллическая целлюлоза	Наполнитель	450.2
Микрокристаллическая целлюлоза	Носитель	70.0

ный раствор pH 4.5, фосфатный буферный раствор pH 6.8). Буферные растворы приготовлены в соответствии с ОФС.1.3.0003.15.

Для исследования кинетики растворения использовался прибор Dissolution Tester «DISTEK Evolution Model 6100», представляющий собой аппарат II «Лопастная мешалка».

*Растворение в водных средах с различным значением pH.* 900 мл соответствующей свежеприготовленной среды термостатировались в сосуде для растворения объемом 1 л при температуре  $37 \pm 1$  °C и скоростью вращения мешалки, равной 70 об/мин. После добавления в сосуд растворения образца ЛП для исследования и начала теста растворения по рекомендации FDA спустя 5, 10, 20, 30, 45, 60 и 90 минут из каждого сосуда отбирали пробы по 5 мл. Фильтровали через мембранный фильтр CHROMAFIL® (0.45 мкм) в виалы для ВЭЖХ, отбрасывая первые 2 мл фильтрата. Для теста в каждой среде использовалась по 12 таблеток каждой серии.

*Растворение по методу, рекомендованному FDA.* 1000 мл свежеприготовленного 0.01 М раствора HCl термостатировались в сосуде для растворения объемом 2 л при температуре  $37 \pm 1$  °C и скоростью вращения мешалки, равной 70 об/мин.

После добавления в сосуд растворения образца ЛП для исследования и начала теста растворения, спустя 10 минут добавляли 800 мл 2.25% (масс) раствор лаурилсульфата натрия в 0.01 М HCl. По рекомендации FDA спустя 5, 10, 20, 30, 45, 60 и 90 минут после добавления раствора SLS из каждого сосуда отбирали пробы по 5 мл. Фильтровали через мембранный фильтр CHROMAFIL® (0.45 мкм) в виалы для ВЭЖХ, отбрасывая первые 2 мл фильтрата.

Используемая система ВЭЖХ состояла из ВЭЖХ-насоса, автосамплера и флуориметрического детектора Prominence RF-20A (Shimadzu, Япония). Разделение осуществляли с помощью колонки Acquity UPLC® BEH C18 (50×2.1 мм, размер частиц 1.7 мкм, Waters, США). Система работала при 50 °C с подвижной фазой, состоящей из H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, воды и ацетонитрила в объемном соотношении 0.7:139.3:260. Объем вводимой пробы составил 10 мкл, скорость потока – 0.1 мл/мин. Детектирование проводили при  $\lambda(\text{ex}) = 305$  нм,  $\lambda(\text{em}) = 405$  нм, время хроматографирования составляло 9 мин., время удерживания этравирина – 5.5 мин.

Стандартный раствор: точная навеска 10 мг стандартного образца этравирина помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли

50 мл ацетонитрила и обрабатывали на ультразвуковой бане в течение 20 минут или до полного растворения, охлаждали до комнатной температуры и доводят объем раствора ацетонитрилом до метки и перемешивают. Полученный раствор разбавляли подвижной фазой до концентрации этравирина 1 мкг/мл.

В соответствии с ОФС.1.1.0012.15 проводилась валидация методики по следующим характеристикам: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность и прецизионность (повторяемость). Также был определен предел количественного определения (ПКО).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

*Растворение в водных средах с pH 1.2, 4.5, 6.8.*

Результаты оценки кинетики растворения для 5 серий препарата Интеленс® 200 мг в трех водных средах (pH 1.2, 4.5, 6.8) в течение 90 минут представлены на профилях растворения (рис. 2.)

В течение всего времени эксперимента в водных средах с физиологическим значением pH во временных точках 5, 10, 20, 30, 45 и 60 минут наблюдался рост градиента концентрации ФС ETR. В точке 90 минут значения соответствовали точке растворения 60 минут. При pH 1.2 и 6.8 наблюдались одинаковые значения высвобождения 0.8 % (1.847 и 1.798 мкг/мл, соответственно), а в среде ацетатного буфера с pH 4.5 наблюдалось максимальное растворение ФС ETR – 6.3 % (13.991 мкг/мл).

*Растворение Интеленс® по методу, рекомендованному FDA.* Результаты оценки кинетики растворения для 5 серий препарата Интеленс® 200 мг в среде для теста «Растворение» в течение одного часа представлены (рис. 3).

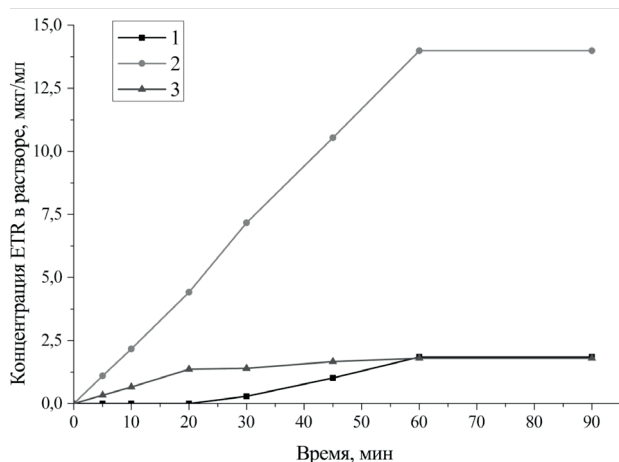


Рис. 2. Профили растворения ЛП Интеленс® таблетки, 200 мг в средах с различным значением pH: 1) pH 1.2, 2) pH 4.5, 3) pH 6.8.

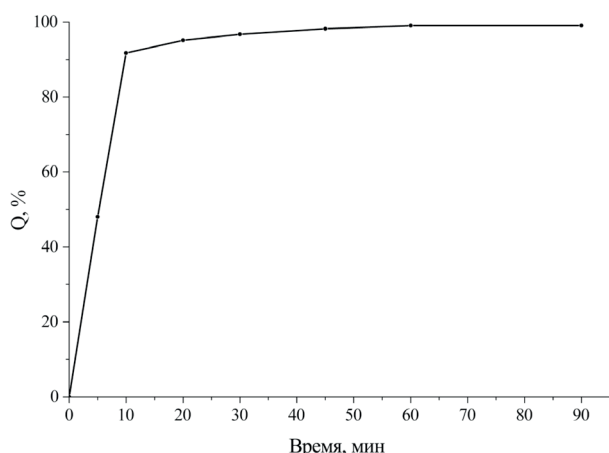


Рис. 3. Профиль растворения ЛП Интеленс® таблетки, 200 мг в среде для контроля качества ЛП, где Q – количество действующего вещества, высвободившегося в среду растворения, от заявленного содержания, %.

В среде растворения для контроля качества ЛП, высвобождение ФС ETR через 5 минут – 48.0 %, а во второй точке, которая соответствует 10 минут – 91.7 %, далее во временных точках от 20 минут до 90 минут наблюдается незначительный рост растворения ФС ETR от 95.2 до 99.1 %.

Результаты анализа показали, что характеристики предложенного в данной работе метода удовлетворяют требованиям ОФС для качественного и количественного анализа ETR. Коэффициент детерминации составил ( $R^2$ ) > 0.999. ПКО составил 0.72 нг/мл.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые изучена кинетика растворения ЛП Интеленс® таблетки, 200 мг в средах с физиологическим значением pH на выборке из 5 серий ЛП, с использованием разработанного точного и чувствительного ОФ-ВЭЖХ метода количественного определения ФС ETR в водных средах.

Полученные данные оценки кинетики растворения ЛП Интеленс® таблетки, 200 мг являются весьма полезными, так как в открытых источниках нет приведенных данных для данных сред. Полученные результаты позволяют проводить сравнительные тесты растворения, что впоследствии упростит вывод новых ЛП ETR в виде твердых дозированных ЛФ, делая фармацевтический рынок более конкурентоспособным, а сами препараты – более доступными.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vingerhoets J., Azijn H., Fransen E., De Baere I., Smeulders L., Jochmans D., Andries K.,

Pauwels R., de Béthune M.P. // J. Virol. 2005. Vol. 79 (20), pp. 12773-12782.

2. Intelence FDA Approval History. Режим доступа: <https://www.drugs.com/history/intelence.html> (дата обращения: 29.04.2021).

3. Andries K., Azijn H., Thielemans T., Ludovici D., Kukla M., Heeres J., Janssen P., De Corte B., Vingerhoets J., Pauwels R., de Béthune, M. P. // Antimicrob. Agents Ch. 2004. Vol. 48 (12), pp. 4680-4686

4. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Assessment report for Intelence. London: European Medicines Agency; 2008. 52 p. Report No.: EMEA/CHMP/43952/2008. Режим доступа: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/intelence-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/intelence-epar-public-assessment-report_en.pdf) (дата обращения: 29.04.2021)

5. Kapoor B., Kaur R., Kaur S., Behl H., Kour S. // Int. J. Recent Adv. Pharm. Res. 2012. Vol. 2(2), pp. 1-16

6. Демина Н.Б. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 2. С. 56-60.

7. Akiladevi D., Shanmugapandiyan P., Jebasingh D., Basak S. // Int. J. Pharm. Sci. 2011. Vol. 3(1), pp. 188-191.

8. Guntaka P.R., Lankalapalli S. // Asian J. Pharm. Clin. Res. 2019. Vol. 12(2), pp. 17-26.

9. Kushwaha A., Prajapati S.K., Sharma B. // Am. J. Pharm. Tech. Res. 2011. Vol. 1(3), pp. 179-201

10. Sawicki E. PhD diss. Amsterdam, 2017, 229 p.

11. Démuth B., Nagy Z.K., Balogh A., Vigh T., Marosi G., Verreck G., Van Assche I., Brewster M.E. // Int. J. Pharm. 2015. Vol. 486(1-2), pp. 268-286.

12. Kommavarapu P., Maruthapillai A., Palanisamy K., Koya T.R. // Pak. J. Pharm. Sci. 2016. Vol. 29(6), pp. 2023-2031.

13. Fagerberg J.H., Bergström C.A.S. // Therapeutic Delivery. 2015. Vol. 6(8), pp. 935-959.

14. Choi S.O., Rezk N.L., Kashuba A.D.M. // J. Pharmaceut. Biomed. 2007. Vol. 43(4), pp. 1562-1567.

15. Notari S., Bocedi A., Ippolito G., Narciso P., Pucillo L.P., Tossini G., Donnorso R.P., Gasparrini F., Ascenzi, P. // J Chromatogr. B. 2006. Vol. 831(1-2), pp. 258-266.

16. Смехова И.Е., Перова Ю.М., Кондратьева И.А., Родыгина А.Н., Турецкова Н.Н. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 1(2). С. 50–61.

17. Niazi. S.K. Handbook of Bioequivalence Testing. Boca Raton, CRC Press, 2014, 2 ed., 1007 p.

## DISSOLUTION KINETICS STUDY OF DRUG INTELENCE®

S. A. Zolotov, E. S. Ponomarev, I. A. Dain, A. S. Zolotova

LLC "AMEDART"

**Abstract.** Etravirine (ETR, TMC125) is a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) used in antiretroviral therapy. The active pharmaceutical ingredient (API) belongs to the IV class of the biopharmaceutical classification system (BCS), having low water solubility and permeability. An original drug is marketed under the trade name Intelence®. To improve solubility and bioavailability of the API, they use technology of obtaining solid dispersion API – polymer.

There is no information in open sources about the kinetics of dissolution of Intelence® in media with physiological pH 1.2, 4.5, 6.8. The data will make a study of the equivalence of the drug using the biowaiver procedure possible, which will facilitate the development and launch of generic drugs on the market.

To study the dissolution kinetics of Intelence® tablets, 200 mg was the aim of the paper. The object of the study was Intelence® tablets, 200 mg (5 batches). During the entire experiment, at time points 5, 10, 20, 30, 45 and 60 minutes, an increase in the concentration gradient of API in aqueous media with a physiological pH value was observed. At the 90 minutes the values corresponded to the ones at point 60 minutes. At pH 1.2 and 6.8 the same release values – 0.8% (1.847 and 1.798 µg/ml, respectively) – were observed, and the maximum dissolution of API – 6.3% (13.991 µg/ml) – was observed in the acetate buffer with pH 4.5.

Thus, we studied the dissolution kinetics of Intelence® tablets, 200 mg in media with physiological pH values on a sufficient sample (5 series of drugs) using the developed accurate and sensitive RP-HPLC method for API etravirine assay.

**Keywords:** etravirine, dissolution profile, HPLC.

### REFERENCES

1. Vingerhoets J., Azijn H., Fransen E., De Baere I., Smeulders L., Jochmans D., Andries K., Pauwels R., de Béthune M.P., *J. Virol.*, 2005, Vol. 79(20), pp. 12773-12782.
2. Intelence FDA Approval History. Available at: <https://www.drugs.com/history/intelence.html> (accessed 29 April 2021).
3. Andries K., Azijn H., Thielemans T., Ludovici D., Kukla M., Heeres J., Janssen P., De Corte B., Vingerhoets J, Pauwels R, de Béthune, M. P., *Antimicrob. Agents Ch.*, 2004, Vol. 48(12), pp. 4680-4686. DOI: 10.1128/AAC.48.12.4680-4686.2004
4. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Assessment report for Intelence. London: European Medicines Agency; 2008. 52 p. Report No.: EMEA/CHMP/43952/2008. Available at: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/intelence-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/intelence-epar-public-assessment-report_en.pdf) (accessed 29 April 2021)
5. Kapoor B., Kaur R., Kaur S., Behl H., Kour S., *Int. J. Recent Adv. Pharm. Res.*, 2012, Vol. 2(2), pp. 1-16.
6. Demina N.B., *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2017, No. 2, pp. 56-60.
7. Akiladevi D., Shanmugapandiyan P., Jebasingh D., Basak S., *Int. J. Pharm. Sci.*, 2011, Vol. 3(1), pp. 188-191.
8. Guntaka P.R., Lankalapalli S., Asian J. *Pharm. Clin. Res.*, 2019. Vol. 12(2), pp. 17-26.
9. Kushwaha A., Prajapati S.K., Sharma B., *Am. J. Pharm. Tech. Res.*, 2011, Vol. 1(3), pp. 179-201. Available at: <http://ajptr.com/archive/volume-1/october-2011-issue-3> (accessed 05 June 2021).
10. Sawicki E. PhD diss. Amsterdam, 2017, 229 p.
11. Démuth B., Nagy Z.K., Balogh A., Vigh T., Marosi G., Verreck G., Van Assche I., Brewster M.E., *Int. J. Pharm.*, 2015, Vol. 486(1-2), pp. 268-286.
12. Kommavarapu P., Maruthapillai A., Palanisamy K., Koya T.R., *Pak. J. Pharm. Sci.*, 2016, Vol. 29(6), pp. 2023-2031. Available at: <http://www.pjps.pk/wp-content/uploads/pdfs/29/6/Paper-17.pdf> (accessed 05 June 2021).
13. Fagerberg J.H., Bergström C.A.S., *Therapeutic Delivery*, 2015, Vol. 6(8), pp. 935-959.
14. Choi S.O., Rezk N.L., Kashuba A.D.M., *J. Pharmaceut. Biomed.*, 2007, Vol. 43(4), pp. 1562-1567.
15. Notari S., Bocedi A., Ippolito G., Narciso P., Pucillo L.P., Tossini G., Donnorso R.P., Gasparrini F., Ascenzi, P., *J Chromatogr. B.*, 2006, Vol. 831(1-2), pp. 258-266.
16. Smekhova I.E., Perova Yu.M., Kondrat'eva I.A., Rodygina A.N., Turetskova N.N., *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2013, No. 1(2), pp. 50-61.
17. Niazi. S.K. *Handbook of Bioequivalence Testing*. Boca Raton, CRC Press, 2014, 2 ed., 1007 p.