

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 615.033:615.1:615.277.3

ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ТЕМОЗОЛОМИДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ *IN VITRO*

Баула О.П.¹, Бессарабов В.И.^{1,2}, Куличенко А.Г.¹

¹Киевский национальный университет технологий и дизайна, кафедра промышленной фармации, г. Киев, Украина, e-mail: baulapharma@gmail.com, stupefyberry@yandex.ru

²АНО «НИМЦ «Геронтология», г.Москва, Россия, e-mail: drvib500@gmail.com

В статье рассматривается проведение сравнительных исследований генерического лекарственного средства на основе темозоломида и оригинально препарата ТЕМОДАЛ® методами *in vitro* с использованием теста «Растворения» с последующей государственной регистрацией по процедуре биоэвивер, которая предполагает получение разрешение на медицинское использование препарата без проведения клинических испытаний. На основе проведенных сравнительных исследований, показано, что субстанция темозоломида относится к первому классу по биофармацевтической классификационной системы (БСК) и имеет высокую растворимость и высокую степень проникновения через биологические мембраны, а препараты относятся к очень быстрорастворимым и имеют подобные профили растворения. Сделан вывод, что референтный и исследуемый препараты являются эквивалентными и могут быть взаимозаменяемыми в медицинской практике.

Ключевые слова: темозоломид, биоэвивер, противоопухолевый препарат, тест «Растворение».

INVESTIGATION OF ANTITUMOR DRUG BASED ON TEMOZOLOMIDE WITH USING METHODS IN VITRO

Baula O.P.¹, Bessarabov V.I.^{1,2}, Kulichenko A.G.¹

¹Kyiv National University of Technologies and Design, Industrial Pharmacy Department, Kyiv, Ukraine, e-mail: baulapharma@gmail.com, stupefyberry@yandex.ru

²"Gerontology" Research Medical Center, Moscow, Russia, e-mail: drvib500@gmail.com

This article represents the comparative studies of generic drug on the basis of temozolomide and original drug TEMODAL® using methods *in vitro* and test "Dissolution", followed by the procedure of state registration of product as biowaiver which involves the obtaining of permission for the medical use of the drug without conduction of clinical trials. On the basis of conducted comparative studies, as a result it was shown that the substance temozolomide belongs to the first class of biopharmaceutical classification system (BCS) and has high solubility and high degree of penetration through biological membranes and drugs refer to very rapidly dissolving, and have similar dissolution profiles. It is concluded that the referent and investigated drugs are equivalent and can be used interchangeably in the medical practice.

Key words: temozolomide, biowaiver, anticancer drug, test "Dissolution".

На территории Украины, как и во всем мире, существует глобальная проблема в лечение онкологических заболеваний среди пациентов разных возрастных групп, в том числе и среди людей пожилого возраста. В Украине по статистике 2002-2013 гг. [3], общее количество зарегистрированных больных с различными формами онкологических заболеваний составило 1987838 человек, при этом за первый год после установления диагноза умирает $\approx 54\%$ больных, к пятому году доживает только 20%. Особую группу составляют пациенты со злокачественными новообразованиями головного мозга (глиомами), количество которых по статистике превышает 33,5 тыс. человек. Опухоли головного мозга очень часто возникают быстро и не всегда возможно их диагностировать вовремя. Диагностика является достаточно дорогостоящей, и после установления диагноза наступает период лечения, который также требует больших финансовых затрат. Одними из наиболее эффективных препаратов для лечения глиом головного мозга являются лекарственные средства на основе темозоломида, который относится к группе цитостатиков с алкилирующим механизмом действия. Препараты темозоломида применяют во всех схемах лечения злокачественных глиом (анапластическая астроцитома, мультиформная глиобластома), как при первичном установлении диагноза, так и при повторном возникновении заболевания.

В медицинскую практику первый препарат на основе темозоломида был введен в США в 1999 году под названием Темодал® фирмой Schering-Plough Corp. [5]. На фармацевтическом рынке Украины существует ряд импортных генерических препаратов, в состав которых входит темозоломид, но в номенклатуре отечественных фармацевтических производителей он отсутствует. Создание отечественного генерического противоопухолевого лекарственного средства на основе темозоломида является важным шагом в лечении глиом головного мозга.

Целью нашего исследования является проведение сравнительных испытаний эквивалентности генерического лекарственного средства на основе активного

фармацевтического ингредиента темозоломида и оригинального препарата ТЕМОДАЛ® методами *in vitro* с использованием теста «Растворение» с последующей государственной регистрацией по процедуре биоэквивалентности, которая предполагает получение разрешения на медицинское использование препарата без проведения клинических испытаний.

Материалы и методы исследования.

Анализ литературных источников, маркетинговые исследования, изучение физико-химических свойств активного фармацевтического ингредиента и проведение его классификации по биофармацевтической классификационной системе (БКС) [4], разработка лекарственной формы и ее состава, проведение сравнительных исследований генерического и оригинального препаратов методом *in vitro* с использованием теста «Растворение».

Результаты исследования и их обсуждение.

Нами были проведены маркетинговые исследования затрат на 1 полный курс лечения для людей пожилого возраста. Стандартный протокол лечения глиобластом основан на исследованиях Роджера Ступпа, опубликованных в 2005 году [9]. Курс лечения состоит из 2-х фаз: фаза комбинированной терапии и фазы монотерапии.

Фаза комбинированной терапии:

Темозоломид назначают перорально, дозой по 75 мг/м^2 , для ежедневного использования на протяжении 42 дней проведения фокальной радиотерапии (общая доза составляет 60 Гр, разделенных на 30 сеансов).

Фаза монотерапии:

Через 4 недели после завершения фазы комбинированной терапии, темозоломид назначают в виде 6 дополнительных циклов адьютививной терапии. Доза, которую используют при проведении первого цикла составляет 150 мг/м^2 , один раз в сутки, на протяжении первых 5 дней 28-дневного цикла (5 дней – приём темозоломида, 23 дня – без приёма препарата). В начале второго цикла дозу увеличивают до 200 мг/м^2 в сутки. Использование препарата дозой 200 мг/м^2 происходит в течении 5 дней во все последующих четырёх циклах.

Так как расчет необходимой дозировки напрямую зависит от площади поверхности тела пациента, была использована формула Хейкока [6]:

$$\text{ППТ}(\text{м}^2) = 0.024265 \times \text{маса}(\text{кг})^{0.5378} \times \text{рост}(\text{см})^{0.3964}$$

Маркетинговые исследования показали, что затраты на курс лечения темозоломидом являются очень большими (обобщенные данные приведены в Таблице 1).

Таблица 1

Затраты на один полный курс лечения темозоломидом.

Группа	Площадь поверхности тела, м ²	Количество лекарственного препарата, мг	Себестоимость лечения по оптово-отпускным ценам, USD	Себестоимость лечения по розничной цене, USD
Люди пожилого возраста Ср. рост - 170см Ср. вес – 62 кг	1,71	15 219 мг	8215	16781

Чтобы лечение пациентов стало доступным и качественным, необходима разработка генерического лекарственного средства на основе темозоломида, который будет терапевтически эквивалентным референтному (оригинальному) лекарственному средству и заменит его в лечебной практике.

Для исследований в качестве референтного препарата был выбран ТЕМОДАЛ®, капсулы по 140 мг во флаконах № 20, производства Орион Фарма, Финляндия / Шеринг-Плау Лабо Н.В., Бельгия.

Нами были проведены исследования растворимости субстанции темозоломида в трех растворах объёмом 250 мл со значением рН: 1,2 4,5, 6,8 при температуре 37±1⁰С. Результаты исследований растворимости представлены в Таблице 2.

Таблица 2

Растворимость субстанции темозоломида при разных значениях рН.

№ п\п	Среда растворения	Растворение, мг/мл
1	рН 1,2 искусственный желудочный сок без ферментов	5,30
2	рН 4,5 ацетатный буфер	6,02
3	рН 6,8 фосфатный буфер0	6,7

По данным литературных источников измеряемый уровень абсорбции темозоломида составляет больше 90% по результатам исследований *in vivo* [7].

По результатам проведённых исследований растворимости и данным по абсорбции темозоломида было установлено, что данная субстанция относится к высокорастворимой и имеет высокую степень проникновения и может быть отнесена к первому классу по БКС.

Лекарственная форма в виде капсул готового лекарственного средства была выбрана аналогично референтному препарату. Качественный состав капсул генерического лекарственного средства разрабатывался в полном соответствии с составом референтного препарата ТЕМОДАЛ®, а количественный состав вспомогательных ингредиентов подбирался в соответствии с рекомендациями *Handbook of excipients* [8].

Сравнительные исследования разрабатываемого лекарственного средства с референтным препаратом были проведены методом *in vitro* с использованием теста «Растворение» в соответствии с нормативными требованиями, принятыми в Украине [2].

Для проведения теста «Растворение» референтного и разрабатываемого препаратов нами были выбраны следующие условия:

Прибор для растворения: прибор с корзинкой.

Скорость вращения: 100 об/мин.

Среды растворения:

- рН 1,2 – искусственный желудочный сок без ферментов;
- рН 4,5 – ацетатный буферный раствор;
- рН 6,8 – фосфатный буферный раствор.

Температура среды растворения: $37 \pm 0,5$ °С.

Объем среды растворения: 900 мл.

Точки контроля: 10 мин, 15 мин, 20 мин, 30 мин, 45 мин.

Для исследования было отобрано по 12 капсул исследуемого и референтного препарата ТЕМОДАЛ®. Пробы из сред растворения отбирались вручную через установленные промежутки времени. Количественное определение растворенного действующего вещества осуществляли методом жидкостной хроматографии в соответствии с требованиями статьи 2.2.29 Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) [1].

В результате проведенных исследований были получены профили растворения референтного и исследуемого препаратов в трех средах, результаты которых представлены на Рис. 1, 2, 3.

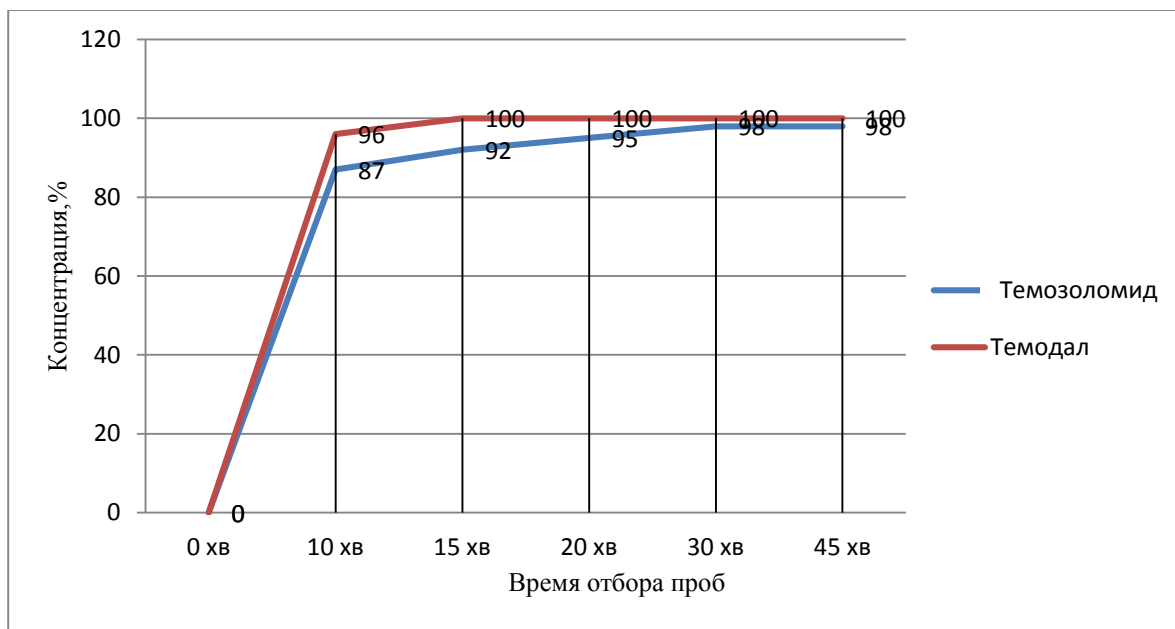


Рис. 1. Профили растворения референтного и исследуемого препаратов на основе темозоломида в среде с pH 1,2.

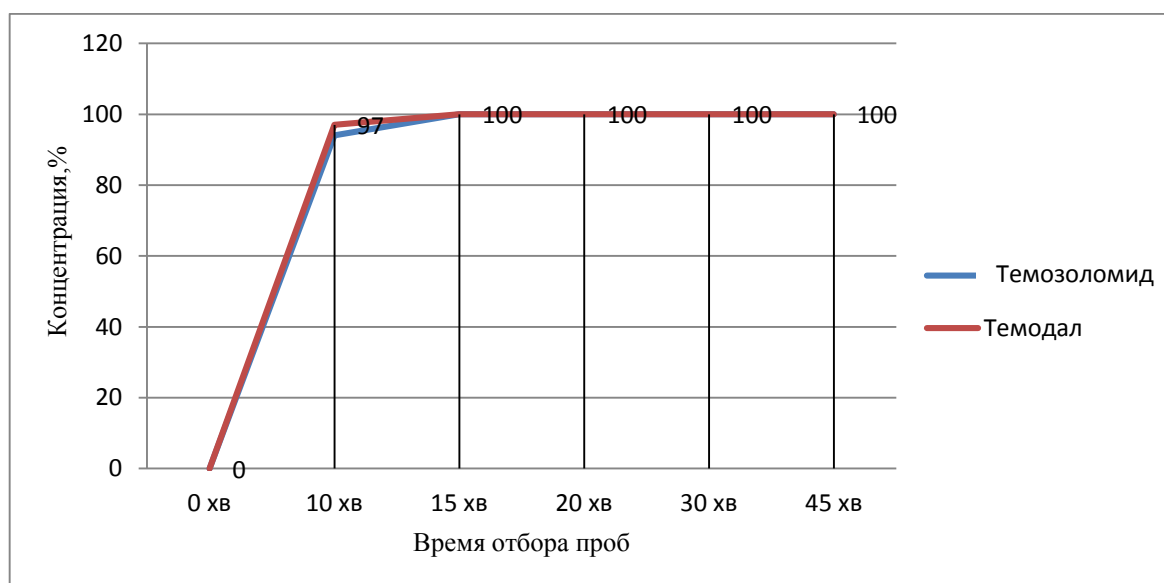


Рис. 2. Профили растворения референтного и исследуемого препаратов на основе темозоломида в среде с pH 4,5.

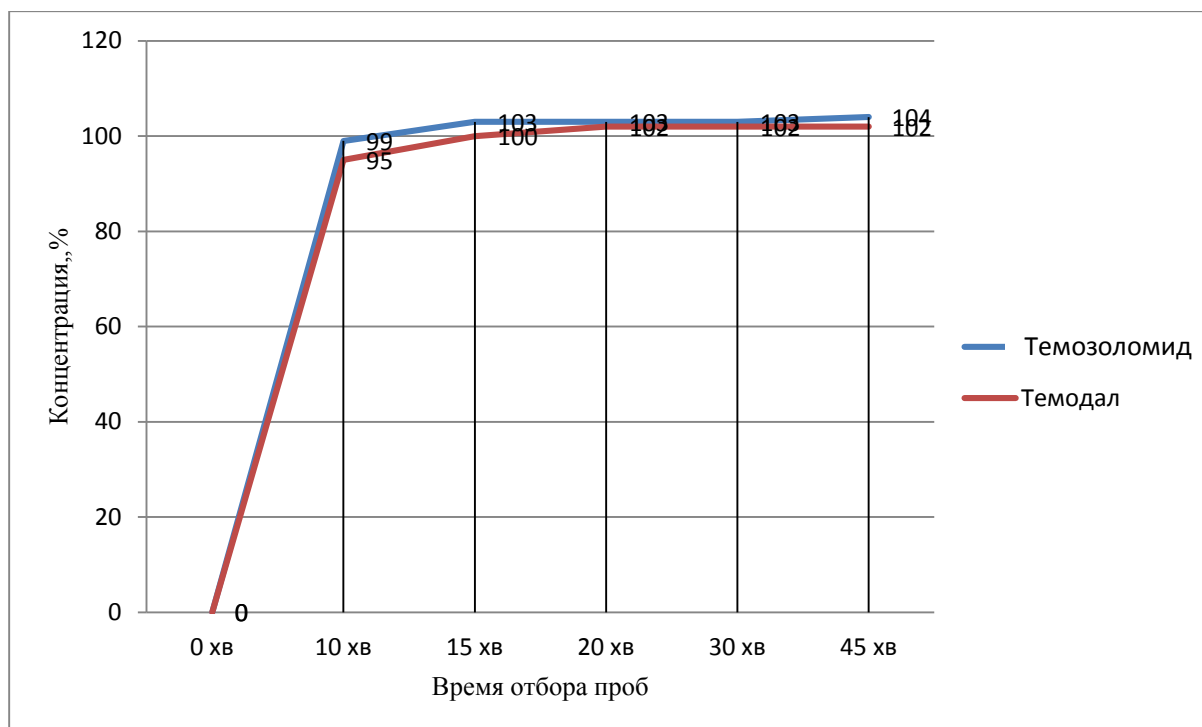


Рис. 3. Профили растворения референтного и исследуемого препаратов на основе темозоломида в среде с pH 6,8.

Как показали профили растворения в результате проведенных испытаний, референтный и исследуемый препараты относятся к очень быстрорастворимым, так как за 15 минут в каждую из трех сред растворения перешло более 85% действующего вещества. На основании полученных данных профили растворения были приняты как подобные без дальнейшей математической оценки.

Вывод.

На основе проведенных сравнительных исследований эквивалентности генерического и референтного препаратов с использованием БКС и метода *in vitro* по тесту «Растворение» было установлено, что субстанция темозоломида относится к первому классу по БКС и имеет высокую растворимость и высокую степень проникновения через биологические мембраны, а препараты относятся к очень быстрорастворимым и имеют подобные профили растворения. Таким образом,

методами *in vitro* было показано, что референтный и исследуемый препараты являются эквивалентными и могут быть взаимозаменяемыми в медицинской практике.

Список литературы.

1. Государственная Фармакопея Украины/ Гос. пред. «Научный-экспертный фармакопейный центр» - 1-е изд. - Харьков:РИРЕГ - 2001 г.-С. 47-49.
2. Приказ Министерства здравоохранения Украины №3 от 04.01.2013 г. «О внесении изменений в приказ Министерства здравоохранения Украины от 26 августа 2005 года № 426 и признании утратившими силу некоторых приказов Министерства здравоохранения Украины по вопросам регистрации лекарственных средств». URL:<http://www.dec.gov.ua/>.
3. Щепотин И.Б. Рак в Украине 2012-2013:Бюллетень национального канцер-реестра Украины / И.Б. Щепотин, З.П. Федоренко, Ю.Й. Михайлович, Л.О. Гулак и др. – Киев: Национальный институт рака-2013.-№14.— С.60. URL:http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_14/Bull_14.
4. Amidon G.L. et al. Atheoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability./ G.L. et al. Amidon.// Pharmaceutical Research. – 1995. - V.12. - P. 413 – 420.
5. FDA Approval for Temozolomide. Product information. TEMODAL® (temozolomide) CAPSULES. - 2005. URL:<http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/fda-temozolomide>.
6. Haycock. G.B. Geometric method for measuring body surface area: A height-weight formula validated in infants, children, and adults./ G.B. Haycock. //J Pediatr. - 1978. – Vol. 93. P. 62-66.
7. Product monograph: TEMODAL® temozolomide 5 mg, 20 mg,100 mg, 140 mg and 250 mg Capsules and 100 mg/vial Powder for solution for Injection. Antineoplastic agent/ Merck Canada Inc. – 2015. URL:[http:// www.merck.ca](http://www.merck.ca).
8. Raymond C Rowe. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Sixth edition / Raymond C Rowe, Paul J Sheskey, Marian E Quinn // Pharmaceutical Press, London, 2009, 888 p.
9. Roger Stupp, M.D. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma/ Stupp Roger, M.D., P. Mason Warren, M.D., J. van den Bent Martin, M.D. and other// *The New England journal of medicine*. - 2005. - Vol. 352. - No.10. - P. 987 - 996.

References.

1. Gosudarstvennaja Farmakopeja Ukrainy [The State pharmacopoeia of Ukraine]. 1 ed., Khar'kov, RIREG, 2001, pp. 47-49.
2. Prikaz Ministerstva zdavoohranenija Ukrainy №3 ot 04.01.2013 g. URL: <http://www.dec.gov.ua/>.
3. Shhepotin I.B., Fedorenko Z.P., Mihajlovich Ju.J., Gulak L.O. et al. *Rak v Ukraine 2012-2013: Bjulleten' nacional'nogo kancer-reestra Ukrainy*. 2013, no 14, p. 60. URL: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_14/Bull_14.
4. Amidon G.L. et al. *Pharmaceutical Research*. 1995, Vol.12, pp. 413 – 420.
5. FDA Approval for Temozolomide. Product information. TEMODAL® (temozolomide) CAPSULES. - 2005. URL: <http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/fda-temozolomide>.
6. Haycock G.B. *J Pediatr*. 1978, Vol. 93, pp. 62-66.
7. Product monograph: TEMODAL® temozolomide 5 mg, 20 mg, 100 mg, 140 mg and 250 mg Capsules and 100 mg/vial Powder for solution for Injection. Antineoplastic agent/ Merck Canada Inc. – 2015. URL: [http:// www.merck.ca](http://www.merck.ca).
8. Raymond C Rowe, Paul J Sheskey, Marian E Quinn. *Handbook of Pharmaceutical Excipients. Sixth edition*. Pharmaceutical Press, London, 2009, 888 p.
9. Roger Stupp, P. Mason Warren, J. van den Bent Martin, and other. *The New England journal of medicine*. 2005, Vol. 352, no 10, pp. 987 - 996.