

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Кравченко Алексей Дмитриевич

**Разработка состава и технологии получения твердой лекарственной формы
на основе производного фенилтетрагидрохинолиндиона из группы
селективных блокаторов TRPA1**

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук,
профессор, член-корреспондент РАН
Пятигорская Наталья Валерьевна

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1. Каналы TRP и TRPA1	15
1.2. Антагонисты TRPA1	24
1.3. Таблетки, диспергируемые в полости рта	27
1.4. Особенности ОДТ и предъявляемые к ним требования	29
1.5. Методы получения ОДТ	34
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	44
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	45
2.1. Структура исследования.....	45
2.2. Объекты исследования	47
2.3. Методы исследования.....	52
2.3.1. Планирование эксперимента и статистические методы анализа.....	52
2.3.2. Изучение кишечной проницаемости.....	59
2.3.3. Изучение биофармацевтической растворимости.....	63
2.3.4. Изучение полиморфизма АФС	64
2.3.5. Оценка стабильности и совместимости АФС	66
2.3.6. Изучение физико-химических свойств АФС	69
2.3.7. Изучение технологических свойств АФС и модельных смесей	71
ГЛАВА 3. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ АФС.....	73
3.1. Прогнозирование свойств АФС <i>in silico</i>	73
3.2. Изучение кишечной проницаемости АФС на модели клеток Caco-2.....	75
3.3. Определение биофармацевтической растворимости и класса БКС АФС	78
3.4. Изучение полиморфизма АФС	81
3.5. Изучение влияния полиморфизма и размера частиц на растворение АФС	84
3.6. Оценка стабильности АФС	86
3.7. Изучение физико-химических свойств АФС	88
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	93

ГЛАВА 4. ПРОЕКТИРОВАНИЕ ЛФ И ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	94
4.1. Теоретическое обоснование выбора лекарственной формы и описание целевого профиля качества лекарственного препарата	94
4.2. Изучение совместимости АФС с основными ВВ, применяемыми в технологии ОДТ	109
4.3. Оценка технологических свойств АФС и модельных смесей с применением метода SeDeM	111
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	122
ГЛАВА 5. ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ЛФ И ПРОЦЕССА ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДИЗАЙНА БОКСА-БЕНКЕНА И МЕТОДА ПОВЕРХНОСТНОГО ОТКЛИКА	123
5.1. Статистический анализ влияния независимых переменных на распадаемость и время смачивания	125
5.2. Статистический анализ влияния независимых переменных на степень водопоглощения	129
5.3. Статистический анализ влияния независимых переменных на высвобождение ФТГХД	132
5.4. Статистический анализ влияния независимых переменных на однородность дозирования	135
5.5. Статистический анализ влияния независимых переменных на истираемость и прочность на раздавливание	138
5.6. Оптимизация концентрации АФС, концентрации кросповидона и давления прессования	142
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	146
ГЛАВА 6. ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ЛФ И ПРОЦЕССА ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДИЗАЙНА БОКСА-УИЛСОНА И МЕТОДА ПОВЕРХНОСТНОГО ОТКЛИКА	148
6.1. Статистический анализ влияния независимых переменных на время дезинтеграции и смачивания	149

6.2. Статистический анализ влияния независимых переменных на степень водопоглощения, высвобождение ФТГХД и однородность дозированных единиц	152
6.3. Статистический анализ влияния независимых переменных на истираемость и прочность таблеток на раздавливание	154
6.4. Статистический анализ влияния независимых переменных на силу выталкивания	157
6.5. Оптимизация концентрации магния стеарата и продолжительности его смешения с остальными компонентами ОДТ	160
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	163
ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА ПРОЕКТА ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ СХЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ И СПЕЦИФИКАЦИИ, ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ПРОЕКТИРУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА	165
7.1. Оптимизация продолжительности смешения основных компонентов ОДТ	165
7.2. Проект технологической схемы получения ОДТ, содержащих ФТГХД, с описанием контроля критических стадий	167
7.3. Проект спецификации на ОДТ, содержащие ФТГХД, и ее обоснование	176
7.4. Данные по стабильности проектируемого ЛП	179
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7	182
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	183
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	185
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	187
ПРИЛОЖЕНИЕ А	205
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	206
ПРИЛОЖЕНИЕ В	207
ПРИЛОЖЕНИЕ Г	208

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Согласно постановлению Правительства РФ от 15 апреля 2014 г. N 305 «Об утверждении государственной программы Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» повышение конкурентоспособности и расширение ассортимента российской продукции фармацевтической и медицинской промышленности, и реализация ее экспортного потенциала в настоящее время во многом определяется инновационными и техническими возможностями как производственных предприятий, так и научных организаций. При этом особое внимание уделяется разработкам инновационных препаратов, основанных на прорывных открытиях, к которым относятся, в частности, лекарственные средства с принципиально новыми механизмами действия, таргетно воздействующие на патогенетические звенья развития болезни.

Наиболее распространенным патологическим состоянием, с которым неоднократно сталкивается почти любой человек, является боль. Она снижает качество жизни, может привести к потере трудоспособности, а также оказывает значительную экономическую нагрузку на государство.

Существующие методы фармакотерапии боли ограничены в основном ингибиторами циклооксигеназы и наркотическими анальгетиками, применение которых сопряжено с многочисленными побочными эффектами и частой неэффективностью, в связи с чем остаются актуальными поиск и создание лекарственных препаратов «нового типа» – с иным механизмом действия, заключающимся в непосредственном блокировании рецепторов ноцицептивной системы. К таким рецепторам относятся экспрессируемые сенсорными нейронами и барьерными клетками рецепторы подсемейства TRPA1, которые представляют собой универсальные лабильные сенсоры различных по своей природе раздражителей, ответственные, в частности, за гипералгезию, и следовательно,

представляющие собой перспективную мишень для поиска новых анальгетических средств.

В ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» был проведен высокопроизводительный молекулярный скрининг и синтез отобранных соединений из группы производных фенилтетрагидрохинолиндионов (ФТГХД), а также тесты *in vitro*, подтверждающие механизм действия и специфическую активность потенциальных кандидатов в селективные антагонисты ионного канала TRPA1. Из полученных соединений наиболее активным оказалось 7-(2-хлорофенил)-4-(4-метил-1,3-тиазол-5-ил)-4,6,7,8-тетрагидрохинолин-2,5(1H,3H)-дион, который по данным, полученным *in vivo* по анальгетической активности превосходит препарат Кеторол® и сопоставимым по выраженности противовоспалительного действия с диклофенаком натрия. Таким образом, отобранное производное ФТГХД может стать первым представителем инновационного класса обезболивающих препаратов с принципиально новым механизмом действия, отличным от такового для НПВС и опиоидных анальгетиков. Для достижения поставленной цели требуются углубленные доклинические и дальнейшие клинические исследования отобранного производного ФТГХД, для чего необходимо разработать лекарственную форму (ЛФ) на его основе.

В процессе исследований производного ФТГХД *in vivo* была установлена его активность и дозировка при пероральном применении, в связи с чем было решено разработать ЛФ производного ФТГХД для приема внутрь. Среди ЛФ для приема внутрь особое место занимают таблетки, диспергируемые в полости рта (ОДТ), поскольку они совмещают в себе преимущества твердых дозированных (высокая стабильность, точность доставляемой дозы, компактность, удобство применения и хранения) и жидких ЛФ (быстрое начало терапевтического действия, отсутствие необходимости в приеме жидкости), а также характерные только для данной формы – отсутствие необходимости в глотании, которые делают их идеальным способом доставки анальгетических и

противовоспалительных средств для широкого круга потенциальных потребителей.

В фармацевтической промышленности и регуляторной практике в последнее время большое внимание уделяется возможности модуляции процесса получения лекарственных препаратов без изменения качества конечного продукта, то есть так называемой работе в области проектного поля. Для разработки пространства проектных параметров необходимо глубокое понимание свойств всех материалов и процессов, используемых в процессе получения ЛФ, для чего на стадии фармацевтической разработки может быть релевантным применение концепции дизайна экспериментов. Данный подход сводит к минимуму будущие риски для качества лекарственного препарата на всем протяжении его жизненного цикла, поскольку его качество было заложено на начальных стадиях разработки.

Степень разработанности темы

На данный момент в мире не зарегистрирован ни один селективный блокатор TRPA1 в качестве лекарственного средства. В открытых источниках отсутствуют данные по разработке ЛФ селективных антагонистов TRPA1. На основании изучения баз данных патентов Российской Федерации и зарубежных патентных ведомств, российской и иностранной научной литературы было установлено отсутствие информации о разработке состава и технологии получения ЛФ, содержащей производное ФТГХД с TRPA1-антагонистической активностью – 7-(2-хлорофенил)-4-(4-метил-1,3-тиазол-5-ил)-4,6,7,8-тетрагидрохинолин-2,5(1H,3H)-дион.

В данной работе представлены результаты разработки первой ЛФ нового блокатора TRPA1 – ОДТ, с потенциальной анальгетической и противовоспалительной активностью, выполненной в Центре фармацевтических технологий Института трансляционной медицины и биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Цель и задачи исследования

Целью данного исследования являлась риск-ориентированная разработка твердой ЛФ производного ФТГХД с потенциальной анальгетической и противовоспалительной активностью.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи** исследования:

1. Проанализировать особенности, методы получения и требования, предъявляемые к разработке и контролю качества таблеток, диспергируемых в полости рта;
2. Изучить биофармацевтические, физико-химические и технологические свойства и оценить стабильность производного ФТГХД;
3. Обосновать целевой профиль качества (ЦПК) проектируемого лекарственного препарата (ЛП), на основе оценки рисков установить критические показатели качества (КПК) проектируемого ЛП, критические показатели материалов (КПМ) и критические показатели процесса (КПП);
4. На основе оценки совместимости и с применением метода круговых диаграмм – SeDeM (Sediment Delivery Model) осуществить качественный выбор вспомогательных веществ;
5. С помощью подхода «дизайн экспериментов» с применением планов Бокса-Бенкена и Бокса-Уилсона на основе метода поверхностного отклика изучить количественное влияние КПМ и КПП на КПК проектируемого ЛП и установить оптимальный состав ЛФ;
6. Разработать проект технологической схемы получения и описания процесса получения ЛФ и спецификации нормативного документа по качеству проектируемого ЛП, установить критические стадии процесса получения ОДТ, оценить стабильность проектируемого ЛП.

Научная новизна

В данной работе представлены результаты фармацевтической разработки первой ЛФ инновационного биологически активного вещества с TRPA1-антагонистическим действием – производного ФТГХД. Впервые изучены биофармацевтические свойства указанного соединения, позволившие классифицировать производное ФТГХД как вещество II класса биофармацевтической классификационной системы (БКС). Изученные физико-химические и технологические свойства производного ФТГХД были использованы в качестве основы риск-ориентированного проектирования лекарственного препарата. На основе имеющихся данных о свойствах изучаемой АФС, ее предполагаемого терапевтического действия и желаемых параметров конечного продукта были научно обоснованы ЛФ и способ ее получения. При проектировании ЛФ был использован метод оценки риска, позволивший выделить КПК будущего ЛП, КПМ и КПП. В основу выбора вспомогательных веществ (ВВ) легла их совместимость с производным ФТГХД, а также оценка их влияния на КПК ОДТ, проведенная с помощью метода SeDeM.

В данной работе впервые представлены результаты углубленного изучения количественного влияния КПМ и КПП на КПК ОДТ. Функциональные зависимости, полученные с помощью регрессионного анализа в соответствии с разработанным дизайном исследования, в основу которого лег метод поверхностного отклика, реализованный в соответствии с планами Бокса-Бенкена и Бокса-Уилсона, были использованы для оптимизации количественного состава и параметров технологического процесса получения ЛФ производного ФТГХД. ОДТ с оптимизированными характеристиками, удовлетворяли всем требованиям проекта нормативного документа по качеству, разработанного в соответствии с Фармакопеей Евразийского экономического союза (ФЕАЭС), Государственной фармакопеей Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ), ведущими зарубежными фармакопеями и руководствами по разработке твердых ЛФ. На основе полученных данных по стабильности проектируемого ЛП предполагаемый

срок годности был установлен в 2 года при хранении при температуре не выше 25 °С в оригинальной упаковке (банка в пачке).

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе исследования получены практические данные по биофармацевтическим, физико-химическим и технологическим свойствам производного ФТГХД, оценена его стабильность. Полученные данные могут быть использованы при составлении регистрационного досье на проектируемый ЛП. Предложена рецептура и технология получения ОДТ, удовлетворяющие основным регуляторным требованиям. Результаты представляют собой данные ранней фармацевтической разработки и являются основой для дальнейшего масштабирования, оптимизации и изучения свойств проектируемого ЛП с целью его потенциального вывода на фармацевтический рынок.

Теоретическая значимость работы заключается в разработке и реализации подхода по проектированию стабильной твердой дозированной ЛФ на основе комбинированного метода фармацевтической разработки, включающего в себя риск-ориентированное проектирование ЛФ, оценку совместимости, скрининговые и таргетные исследования АФС и модельных смесей, и применение принципа «дизайна эксперимента», реализованного в соответствии с планами Бокса-Бенкена и/или Бокса-Уилсона.

Методология и методы исследования

В основе исследования лежат принципы и рекомендации, изложенные в руководстве ICH Q8 «Фармацевтическая разработка». В процессе исследования руководствовались требованиями ФЕАЭС, ГФ РФ, ведущих зарубежных фармакопей, нормативно-правовыми актами ЕАЭС, РФ, а также руководствами ICH и Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA). В исследовании был применен комплексный подход для

экспериментальной оценки пригодности АФС к формулированию и разработке твердой ЛФ на ее основе. В процессе разработки были использованы следующие методы: литературный и патентный поиск, расчетно-прогностические *in silico*-методы, биологические, физико-химические, инструментальные методы, фармацевтико-технологические и математико-статистические: метод круговых диаграмм, метод поверхностного отклика, регрессионный анализ, функция желательности и др.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты изучения биофармацевтических, физико-химических, технологических свойств АФС, результаты оценки стабильности производного ФТГХД.
2. Результаты риск-ориентированного проектирования ЛФ производного ФТГХД.
3. Результаты выбора ВВ на основе совместимости и метода SeDeM.
4. Результаты изучения влияния КПМ и КПП на КПК проектируемого ЛП и результаты оптимизации состава и параметров получения ОДТ.
5. Результаты оценки качества и стабильности спроектированного ЛП.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов, полученных в ходе диссертационного исследования, обоснована достаточным объемом выполненных экспериментов с использованием чувствительных методик, современного сертифицированного оборудования и программного обеспечения, а также общепринятых критериев статистической обработки данных и теоретическим обоснованием полученных экспериментальных данных.

Основные положения и результаты диссертационного исследования были представлены на международной научно-практической конференции

«Корреляционное взаимодействие науки и практики в новом мире» (25, 26 декабря 2020 г., Санкт-Петербург), XI всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (15 марта – 23 апреля 2021 г., Санкт-Петербург), всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическое образование СамГМУ. История, современность, перспективы» (26, 27 декабря 2021 г., Самара), всероссийской научно-практической конференции «Инновационные исследования: теоретические основы и практическое применение» (06 декабря 2021 г., Уфа), международной научно-практической конференции «Концепции и модели устойчивого инновационного развития общества» (5 мая 2022 г., Волгоград).

Апробация результатов диссертации состоялась на межкафедральной конференции кафедры промышленной фармации и кафедры фармацевтической технологии и фармакологии Института профессионального образования, кафедры фармацевтической технологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский Университет), кафедры фармакологии и клинической фармакологии Белгородского государственного национального исследовательского университета, протокол № 4 от 06.04.2023 г.

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в разработке дизайна исследования, в постановке задач и их реализации в экспериментальной части. Автором лично проведены исследования биофармацевтических, физико-химических и технологических характеристик инновационной АФС производного ФТГХД, проведена разработка состава и технологии получения инновационного лекарственного средства (ЛС) с потенциальными анальгетическими и противовоспалительными эффектами методом математического планирования.

Научные результаты, обобщенные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно и внедрены в практику.

Внедрение результатов исследования

Научно-практические результаты исследования – лабораторный регламент (ЛР № 13353384-2023) получения ОДТ производного ФТГХД (Акт внедрения № б/н от 28.02.2023 г.) и проект нормативного документа по качеству «Таблетки, диспергируемые в полости рта, производного ФТГХД с TRPA1-антагонистической активностью» (Акт внедрения № б/н от 28.02.2023 г.) внедрены в работу АО «МираксБиоФарма», Россия; результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре промышленной фармации Института профессионального образования ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Акт внедрения № 211 от 14.03.2023 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, а именно пунктам 2, 3, 4.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и является фрагментом исследования по теме «Развитие научных и научно-методических основ, базовых и инновационных подходов при разработке, внедрении и применении лекарственных средств» (номер государственной регистрации 01.2.012.61653).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 12 работ, в том числе 3 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 4 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer; 5 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 208 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, экспериментальной части, общих выводов, списка литературы, включающего 131 источник, в том числе 115 зарубежных, и приложений. Работа проиллюстрирована 45 рисунками, 56 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Каналы TRP и TRPA1

Каналы временного рецепторного потенциала (Transient receptor potential channels (TRP channels) – обширное семейство относительно неселективных катионных каналов преимущественно плазматической мембраны, проницаемых для таких ионов как калий, натрий, магний и кальций [7]. Семейство TRP каналов в настоящее время представлено одиннадцатью подсемействами, объединенными на основе гомологии последовательностей в три группы, при этом каждое подсемейство включает несколько членов (таблица 1) [58, 96]. Все подсемейства рецепторов TRP схожи в том, что они представляют собой относительно неселективные катионные каналы (однако, TRPM4,5 проницаемы только для однозарядных катионов [41], а пропускная способность TRPV5,6 в отношении двухзарядных катионов выше в 100 – 130 раз чем для однозарядных [62]), чувствительные к различным раздражителям и имеющие шесть трансмембранных сегментов (S1 – S6) с внутриклеточными N- и С-терминалями (за исключением PKD1-подобных каналов) [108].

Группы TRP каналов I и II различаются тем, что подсемейства TRPP и TRPML имеют гораздо более длинную внеклеточную петлю между трансмембранными сегментами S1 и S2 и в целом для них характерно более простое строение. Другой отличительной особенностью является то, что все представители группы I содержат либо последовательность внутриклеточных анкириновых повторов у N-конца (TRPC, TRPV, TRPN, TRPA), либо богатый пролином специфический «TRP-домен» у С-терминали (TRPC, TRPM, TRPA), либо и то и другое, тогда как для обоих подсемейств группы II не характерно ни первое, ни второе [58].

Таблица 1 – Классификация и характеристика TRP каналов (полужирным шрифтом выделены каналы, встречающиеся в клетках человека)

Группа TRP каналов	Подсемейство	Характеристика
Группа I	TRPC (канонические)	Данное подсемейство получило название «канонические TRP», поскольку к ним относится впервые описанный trp канал дрозофил, с которого началось изучение каналов временного рецепторного потенциала [77]. Каналы TRPC имеют архетипическую структуру и характеризуются наличием 3 – 4 сегментов концевых анкириновых повторов [122]. TRPC участвуют в поддержании ионного баланса, в регуляции сосудистого тонуса, роста клеток, пролиферации и патологической гипертрофии тканей [120].
	TRPV (ванилоидные)	Данное подсемейство получило название за счет чувствительности TRPV1 к ваниллоидным (подобным ванилину) соединениям, например, капсаицину и резинифератоксину [58]. TRPV имеют архетипическую структуру большинства TRP-каналов и характеризуются наличием длинной внутриклеточной N-терминали, содержащей от 3 до 6 анкириновых повторов, и короткого C-конца, на котором располагается сайт связывания кальмодулина [126]. TRPV1-4 участвуют в восприятии температуры в широком диапазоне (от 27 до 52 °C). TRPV1 является также сенсором раздражителей, например, аллилизотиоцианата, кислой реакции среды, алгогенов, таким образом, участвуя в передаче и модуляции боли, а также в интеграции различных болезненных стимулов [98, 127].
	TRPVL (ванилоидноподобные)	Данное подсемейство было выделено на основе филогенетических исследований Peng и др. в 2015 году и мало изучено, так как ограничено геномами кишечнополостных и кольчатых червей [89].

Продолжение Таблицы 1

	<p>TRPM (меластатиновые)</p>	<p>Данное подсемейство получило название по белку клеточных линий меланомы мышей – меластатину, так как изначально предполагалось, что экспрессия TRPM1 может предотвращать метастазирование меланомы [124]. Представители данного семейства обладают функциональными сегментами на С-концах, например, с α-киназой активностью [19]. TRPM характеризуются различной тропностью к двухзарядным ионам, чувствительностью к активаторам, а также ответственны за выполнение разнообразных функций организма: от распознавания света, температуры и вкуса до регулирования уровня глюкозы в крови и проводимости сердца [123].</p>
	<p>TRPN (немеханорецепторные)</p>	<p>Белок TRPN был первоначально описан у плодовых мушек по гену <i>potpC</i>, делеция которого приводит к потере механочувствительности у мутантных дрозофил. Данное подсемейство широко экспрессируется у животных, но является псевдогеном у амниот. TRPN выделяется на фоне остальных TRP-каналов самым большим количеством анкириновых повторов – обычно около 28–29, которые высоко консервативны для всех таксонов и, как предполагается, участвуют в закрытии поры канала [116].</p>
	<p>TRPS (соромеластатиновые)</p>	<p>Данное подсемейство было названо соромеластатиновым (от лат. <i>sorog</i> – сестра), так как является сестринской группой ионных каналов по отношению к меластатиновому подсемейству TRP каналов. Представители TRPS относительно мало изучены, так как не встречаются у позвоночных и насекомых. Функционально охарактеризован только один член данного подсемейства – CED-11, являющийся кальциевым каналом и участвующий в апоптозе клеток у нематод [92].</p>

Продолжение Таблицы 1

	<p style="text-align: center;">TRPA (анкириновые)</p>	<p>Подсемейство TRPA названо так из-за большого количества анкириновых повторов (для TRPA1 – от 14 до 18 сегментов в зависимости от биологического вида), обнаруженных около N-конца. Представители данного подсемейства широко распространены в органическом мире, при этом существуют как специфические для определенной группы организмов белки, например, HsTRPA, экспрессируемый только у перепончатокрылых, так и широко представленные у различных таксонов – например, TRPA1, встречающийся у позвоночных, членистоногих, моллюсков, нематод и других организмов [89].</p>
Группа II	<p style="text-align: center;">TRPP (поликистозные)</p>	<p>Альтернативное наименование PKD (polycystic kidney disease) данное подсемейство получило благодаря патогенетической роли каналов PKD1 и PKD2 в развитии поликистоза почек. Данное подсемейство на основе структурных различий делится на три подгруппы: PKD1-подобные, PKD2-подобные и TRPP каналы насекомых [121]. Для PKD2-подобных каналов характерна архетипическая структура большинства TRP-каналов с 6 трансмембранными сегментами и внутриклеточными N- и C-терминалями [106]. Представители данной подгруппы функционируют как кальций-селективные каналы и участвуют в восприятии вкуса. PKD1-подобные белки отличаются от всех остальных TRP-каналов наличием 11 трансмембранных сегментов, крупным внеклеточным N-концевым доменом и коротким цитоплазматическим C-концом, содержащим спирально закрученный домен, взаимодействующий с PKD1. PKD1 в комплексе с PKD2 участвует в механочувствительности ресничек почечного эпителия и суставного хряща [105].</p>

Продолжение Таблицы 1

	TRPML (муколипиновые)	Имеют более простую структуру по сравнению с другими TRP-каналами. У млекопитающих и насекомых TRPML1 и trpml соответственно, локализованы в поздних эндосомах и лизосомах. Напротив, TRPML2 и TRPML3 млекопитающих локализируются на плазматической мембране клеток подобно большинству каналам TRP и участвуют в регуляции эндосомного пути и врожденного иммунитета. Мутации в гене TRPML1 – муколипина – вызывают психомоторное и офтальмологическое заболевание – муколипидоз IV типа [55].
TRP каналы грибов	TRPY (дрожжевые)	Являются близкородственными специфическими ионными каналами, обнаруженными в вакуолях дрожжей и других грибов, где они выполняют роль сенсора осмотического давления и участвуют во внутриклеточном высвобождении кальция [117].
	TRPF (грибные)	

Как и большинство других представителей каналов временного рецепторного потенциала, TRPA1 имеет четыре уровня организации белка. Четвертичная структура анкириновых каналов TRP представляет собой гомо- или гетеротетрамер, образующийся путем интеграции субъединиц, состоящих из 6 трансмембранных сегментов, при этом субъединицы могут относиться к одному или нескольким подсемействам каналов TRP [79]. Каждая субъединица TRPA1, являющаяся третичной организацией структуры белка, состоит из 6 трансмембранных сегментов, представляющих собой α -спирали, пятый и шестой из которых образуют петлю входящей поры, и внутриклеточных N- и C-терминалей, на которые приходится суммарно 78 % массы полипептида (рисунок 1).

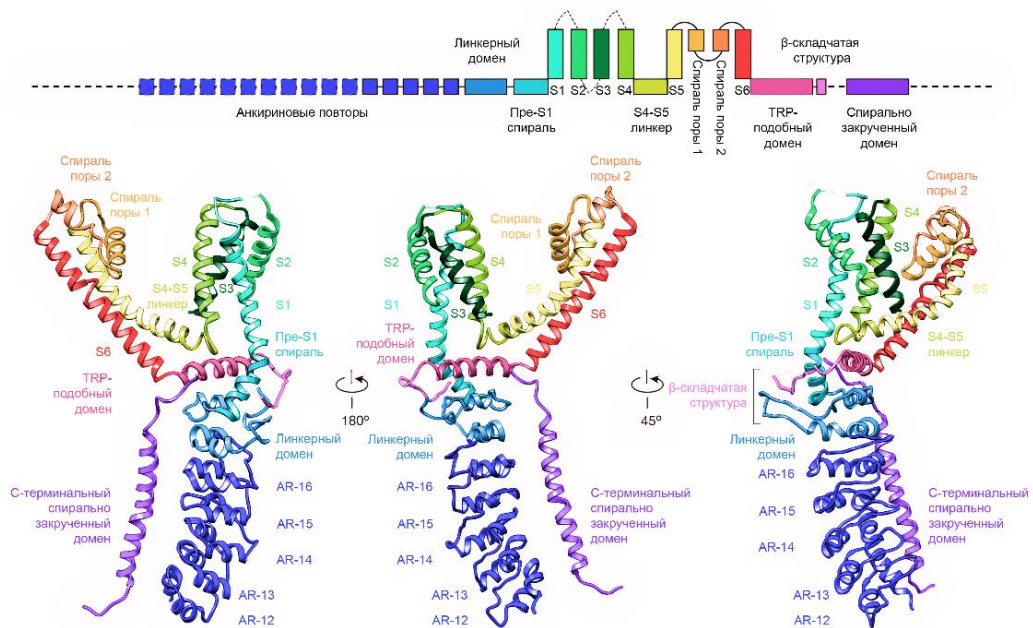


Рисунок 1 – Строение третичной структуры TRPA1, линейная доменная структура (сверху), трехмерная структура, вид с трех сторон (снизу). (S1 – S6 – трансмембранные сегменты, AR-12 – AR-16 – анкириновые повторы)

При этом, лишь 14 % приходится на С-конец, а оставшиеся 64 % массы белка – на N-терминаль, содержащую 16 анкириновых повторов, наличие значительного количества которых и послужило причиной названия данного белка «анкириновый канал временного рецепторного потенциала 1» [103].

Анкириновые (от греч. ἄγκυρα – якорь) повторы являются примером белкового мотива, состоящего из 33 аминокислотных остатков, образующих α -спирали, соединенные петлями и, как предполагается, участвующего в межбелковых взаимодействиях и/или обеспечивающего закрепление белков в фосфолипидном бислое [71].

В последнее время было получено значительное количество данных по структурным особенностям и молекулярным детерминантам каналов TRPA1, свидетельствующих об их полифункциональной активности в качестве универсальных и лабильных сенсоров аллогенов, ирритантов и провоспалительных агентов [74, 76, 119]. В частности, особое значение уделяется доступной для молекул воды pre-S1 области, состоящей из линкерного домена и пре-S1 спирали, в состав которой входят 4 аминокислотных остатка, ответственных за чувствительность TRPA1 к электрофильным ирритантам. Данные 4 реакционноспособные боковые радикала аминокислот: Cys621, Cys641, Cys665 и Lys710 образуют ковалентные связи с различными по своей природе электрофильными агентами, выступающими в качестве токсинов, ирритантов и сигнальных молекул воспаления и боли, путем изменения конформационной структуры белка, что приводит к его активации. Примерами электрофильных агонистов TRPA1 являются: аллицин, содержащийся в чесноке, аллилизотиоцианат, образующийся в горчице и хрене; коричный альдегид, антропогенные соединения: формальдегид, акролеин, кротоновый альдегид, пероксид водорода, оксиды азота, тяжелые металлы и эндогенные соединения: метилглиоксаль, активные формы кислорода и азота и др. В состав трансмембранного ядра TRPA1 также входят пять остатков цистеина и лизина, три из которых (Cys727, Lys771 и Cys834) обращены к липофильной среде и, следовательно, могут быть модифицированы гидрофобными электрофилами, включая вторичные мессенджеры воспаления и боли (например, 4-оксо-2-ноненаль – продукт перекисного окисления липидов; 4,5-эпоксиэйкозатриеновая кислота – эндогенная сигнальная молекула), также приводящие к активации канала TRPA1 [107].

При изучении структурных особенностей TRPA1 были выявлены сайты связывания с различными мессенджерами, ионами и ферментами, напрямую или косвенно ассоциированные с болью и альтерацией (таблица 2).

Таблица 2 – Сайты связывания и чувствительность TRPA1

Область структуры	Сайт связывания	Чувствительность/эффекты	Ссылка
Анкириновые повторы N-конца	EF-hand домен (Gly479 – Leu486, в составе 12 анкиринового повтора)	Чувствительность канала к внутриклеточной концентрации кальция	[40]
	Ser250 и Glu179	Термочувствительность канала	[81]
	Cys540	Чувствительность к концентрации активных форм азота в клетке	[110]
Внутриклеточный C-конец	Leu992 – Asn1008	Активация канала комплексом кальмодулина с кальцием	[93]
	His983 и Cys1021	Активация ионами тяжелых металлов (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+})	[64]
Трансмембранный остов (S1-S6)	Asp915 и Glu920	Сайт связывания с положительно заряженным неселективным блокатором ионных каналов – рутениевым красным	[40, 76]
	Tyr874, Phe909 и предположительно Ser873, Leu881, Phe944 и Val948	Карман связывания антагониста A-967079 и общих анестетиков: изофлурана и пропофола	[107]
	Ser873, Thr874	Сайт связывания эфирномасличных соединений – ментола, тимола и карвакрола	[75]

Таким образом, благодаря наличию различных: как селективных (сайт связывания кальмодулина, тяжелых металлов), так и неспецифических сенсорных молекулярных детерминант (реактивные цистеиновые и лизиновые аминокислотные остатки), анкириновый канал TRP выполняет функцию универсального и лабильного сенсора разнообразных по своей природе стимулов, как правило, носящих альтерирующий характер [76].

Активация TRPA1 может происходить не только при непосредственном воздействии на него неблагоприятных стимулов как физической (низкие температуры [26], механическое воздействие, УФ-излучение [31]), так и химической (электрофильные ирританты и некоторые неэлектрофильные агенты, например, никотин, нифедипин и др. [80, 103]) и биологической природы (липополисахарид [46]), но и регулироваться косвенно через более специфичные рецепторы провоспалительных, аллогенных и пруритогенных (вызывающих зуд) факторов (через системы передачи внутриклеточного сигнала от других рецепторов, в том числе рецепторов, связанных с G-белками, например, при активации брадикинином – нонапептидом с установленным аллогенным действием – рецептора брадикинина 2 (B2) [25]; при передаче сигнала от рецептора, активируемого протеазой 2 (PAR2) [33], для которого установлено взаимодействие с трипсином и триптазой тучных клеток, синтез которых увеличивается на фоне аллергических реакций; через аденилатциклазную систему при взаимодействии простагландина E2 (PGE2) – медиатора воспаления, боли и отека – с рецепторами, простагландинов (EP) [113]; посредством активации рецептора желчных кислот (TGR5) при его взаимодействии с желчными кислотами, для которых было показано пруритогенное действие [112]), тем самым выступая в качестве одного из основных интегральных сенсоров боли и воспаления.

Активация TRPA1, независимо от фактора и механизма ее вызвавшего, приводит к внутриклеточному притоку кальция, что в ноцицептивных терминалях вызывает деполяризацию мембраны и распространение потенциала действия в центральную нервную систему, вызывая ощущение боли, которая также может быть вызвана расширением сосудов головного мозга при активации калиевых каналов ионами кальция, поступающими через ворота TRPA1. Боль, в свою очередь, направлена на избегание неблагоприятного фактора, вызвавшего ее. В барьерных клетках внутриклеточный приток кальция высвобождает вазодилататоры, провоспалительные агенты и аллогены (например, вещество P и пептид, связанный с геном кальцитонина), вызывающие локальное расширение

сосудов, отек, приток лимфоцитов, с целью предотвращения распространения вредных агентов по всему организму и активации защитных механизмов организма [125]. Таким образом, TRPA1 является первичным звеном цепи механизма сигнализации и защиты организма от неблагоприятных факторов внутренней и внешней среды.

1.2. Антагонисты TRPA1

Гиперстимуляция TRPA1, вызванная сверхсильным раздражителем или раздражителем, действующим длительный промежуток времени, может приводить к физиологическим и психологическим нарушениям, проявляющимся в виде продолжительной и/или сильной боли и воспалительного процесса. В последнее время идет активный поиск и изучение регуляторов активности TRPA1, которые могли бы быть полезны в терапии разнообразных заболеваний, сопровождающихся болью и воспалением или вызванных воспалительным процессом, о чем говорит высокая патентная активность (свыше 30 патентов с 2007 года) в данной области. Анализ находящихся в открытом доступе данных о природе антагонистов TRPA1 показал, что они могут быть разделены на две большие группы: проявляющие слабую активность и селективность природные антагонисты, например: терпеноиды, фенолы, описанные в патенте WO 2020086759, и наиболее разнообразные по своей структуре синтетические блокаторы TRPA1.

К исторически первым запатентованным антагонистам TRPA1 согласно патенту WO 2007073505 относятся коммерчески доступные Chembridge-5861528 и HC030031, являющиеся представителями обширной группы сочлененных пиримидиндионов, и AP 18 – представитель группы оксимов (WO 2007098252). Для данных соединений характерны ингибирующие концентрации в микромолярном диапазоне и низкая растворимость, поэтому на данный момент они используются только в исследовательской деятельности. Дальнейший поиск блокаторов TRPA1 был направлен на усовершенствование структуры

сочлененных пиримидиндионов и открытие новых классов соединений. Так, путем замены сочлененного пиррольного кольца на имидазольное (WO 2009144548), тиофеновое (WO 2010109334), изотиазольное (WO 2010109328), фурановое и изоксазольное (WO 2011114184) и комбинации различных боковых заместителей удалось снизить ингибирующую концентрацию до наномолярного диапазона, а введение гидрофильных заместителей в боковой радикал с образованием арилацетилиминов (CN 103261201) позволило увеличить растворимость соответствующих дериватов (WO 2010109334; WO 2010109328; WO 2011114184; WO 2011114184). К родственным сочлененным пиримидиндионам классам соединений, проявляющим TRPA1 антагонистическую активность, помимо арилацетилиминов можно отнести фталимиды (WO 2009118596) и хиназолиндионы (US 20090325987), вместе которые образуют подгруппу арилацетамидов (WO 2009118596; US 20090325987). Данная подгруппа совместно с N-арилсульфонилацетамидами, разделенными на циклические (например, WO 2016128529) и ациклические (например, WO 2014135617), входит в обширную группу – ацетамиды (WO 2014135617; WO 2016128529). К другим группам блокаторов TRPA1 можно отнести 4-фторанилины (WO 2014053694), производные угольной кислоты (WO 2014056958), имидазопиридины (WO 2014076021), фенилпиразинопиримидиндионы (RU 2014147911), оксадиазолы: бициклические (WO 2018162607) и тетрагидрофуранилоксадиазолы (WO 2019182925), 3-арилокси-3-арилпропиламины (WO 2020035040) (WO 2014053694; WO 2014056958; WO 2014076021; WO 2019182925) [119].

Несмотря на всё структурное разнообразие соединений, для которых была установлена TRPA1-антагонистическая активность *in vitro*, лишь немногие соединения прошли доклинические исследования. Это в первую очередь связано с низкой растворимостью и высокой токсичностью большинства соединений. Доклинические исследования блокаторов TRPA1 также усложняются гетерогенностью каналов TRPA1 человека и грызунов. Например, представители

группы AMG (AMG2504, AMG5445, AMG9090 и др.) проявляют частичную агонистическую активность либо не взаимодействуют с TRPA1 крыс [78].

Основным потенциальным терапевтическим применением TRPA1 является купирование и лечение боли [11]. В исследовании [4] соединение ZC02-0012 показало анальгетическую активность, превосходящую таковую для кеторолака по результатам тестов горячей пластины и уксуснокислых корчей. Интраплантарная инъекция AP18 ослабляла механическую гипералгезию у мышей дикого типа и не имела эффекта у мышей с генетическим нокаутом TRPA1 [18]. В исследовании [102] интратекальное введение A-967079 или Chembridge-5861528 уменьшало вторичную механочувствительность после инъекции капсаицина или формалина. В ряде работ [27, 39, 57] было показано, что систематическое применение HC-030031 и Chembridge-5861528 снижает реакцию на механические стимулы у крыс с нейропатией и воспалением.

Еще одним перспективным направлением изучения антагонистов TRPA1 является их блокада воздействия различных ирритантов на организм и последствий альтерации. В 2018 году компания Galderma запатентовала ряд соединений – антагонистов TRPA1 для лечения атопического дерматита [88]. В исследовании [115] соединение BI01305834 уменьшало бронхоспазм у морских свинок в ответ на введение аллергенов. На модели кашлевого ответа, вызванного лимонной кислотой у морских свинок, было продемонстрировано противокашлевое действие GRC 17536 [118]. Исследование [61] показало возможность применения HC-030031 при терапии сердечной дисфункции, вызванной инфарктом миокарда у мышей. Селективный блокатор TRPA1 уменьшал сердечный фиброз и апоптоз клеток после инфаркта миокарда и значительно увеличивал ангиогенез в пограничной зоне альтерации. Внутривентральное или интратекальное введение Chembridge-5861528 подавляло невропатию, вызванную диабетом при отсутствии заметных побочных эффектов во время разового или длительного применения [94].

Согласно [38] среди блокаторов TRPA1 на данный момент до стадии клинических исследований дошло только 5 соединений (CB-625, GRC 17536,

ODM-108, NX-100 и GDC-0334), однако, насколько известно из открытых источников, разработки всех 5 молекул были прекращены главным образом из-за неудовлетворительных фармакокинетических показателей, в связи с чем поиск и изучение новых селективных антагонистов TRPA1, являющихся перспективными объектами для дальнейших разработок новых анальгетиков, противовоспалительных средств, бронхолитиков, средств для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, является актуальной нерешенной задачей.

1.3. Таблетки, диспергируемые в полости рта

Согласно определениям, приведенным в Решении Коллегии ЕЭК № 172 «Об утверждении Номенклатуры лекарственных форм» и ГФ РФ, ОФС.1.4.1.0015.15 «Таблетки», ородиспергируемыми называют таблетки, предназначенные для помещения в полость рта, где они быстро диспергируются до проглатывания. В монографии «Tablets» Европейской Фармакопеи дополнительно приводится указание об отсутствии пленочного покрытия у данного вида таблеток.

Ородиспергируемые таблетки – относительно новая лекарственная форма. В 1986 году компания R.P. Scherer Corporation, США запатентовала Zydis – первую технологию получения таблеток, диспергируемых в полости рта. Данный метод получения ОДТ, основанный на лиофилизации полимерного матрикса с действующим веществом, впоследствии компанией Merck and Co., Inc., США был применен для получения лекарственного препарата фамотидина в виде ОДТ, который в 1993 году в Швеции стали первым зарегистрированным лекарственным средством в данной ЛФ [72]. В настоящее время в виде ОДТ выпускаются лекарственные препараты различных фармакотерапевтических групп, например, на российском рынке в данный момент представлено 26 торговых наименований, среди них: нейролептики 19 % (рисперидон, оланзапин), средства для лечения эректильной дисфункции 12 % (силденафил), антидепрессанты 8 % (миртазапин, эсциталопрам), антигистаминные 12 % (левоцетиризин, эбастин, дезлоратадин), церебровасодилатирующие средства (винпоцетин), противорвотные средства

(домперидон), анальгетики и НПВС 19 % (кеторолак, мелоксикам, нимесулид), противодиарейные (лоперамид), препараты гистамина (бетагистин), анксиолитики (бромдигидрохлорфенилбензодиазепин), антидиабетические средства (десмопрессин), ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (периндоприл), гормональные средства (кальция карбонат + колекальциферол) [1, 10].

Таблетки, диспергируемые в полости рта, наряду с шипучими совмещают в себе свойства твердых и жидких ЛФ. Как и все твердые формы, ОДТ характеризуются большей стабильностью и точностью дозирования, чем жидкие, являются компактной и легко транспортируемой формой доставки действующего вещества. При этом ускоренное по сравнению с классическими твердыми ЛФ начало терапевтического действия, объединяет ОДТ с жидкими ЛФ для приема внутрь. Быстрое наступление фармакологического эффекта ОДТ объясняется их немедленным распадом под действием слюны и/или растворением в ней в течение нескольких секунд, что приводит к высвобождению действующего вещества, которое может начать всасываться уже в ротовой полости, глотке и пищеводе (так называемая, прегастральная абсорбция), и транспортировкой действующего вещества в желудок в виде легко усваиваемой мельчайшей дисперсии и/или раствора, что может также увеличить биодоступность ЛП [131]. Таким образом, ОДТ являются идеальной ЛФ для АФС, относящихся ко II классу БКС [52]. Таблетки, диспергируемые в полости рта, имеют существенное значение для детей и пожилых людей, составляющих большую часть населения, страдающего дисфагией [100]. ОДТ являются предпочтительной ЛФ для пациентов с психоневрологическими заболеваниями, тошнотой, рвотой и морской болезнью. Для приема таблеток, диспергируемых в полости рта, в отличие от шипучих не нужна жидкость, и следовательно они могут быть употреблены в любое время и в любом месте, что особенно важно в экстренных ситуациях, например, при острой боли, аллергической реакции, панических и шоковых состояниях. Отсутствие необходимости в использовании воды для приема ОДТ делает их препаратами выбора для людей, не всегда имеющих доступ к жидкости, ведущих активный

образ жизни. В составе подавляющего большинства таблеток, диспергируемых в полости рта, присутствуют подсластители и ароматизаторы, позволяющие улучшить комплаенс пациента. ОДТ могут являться решением проблемы увеличения жизненного цикла лекарственного средства и продления патента на него [23].

Наряду с вышеуказанными преимуществами, ОДТ имеют такие недостатки как: трудно скрываемый горький вкус, если таковой имеется у АФС; низкая прочность на раздавливание, в связи с чем для упаковки ОДТ используются специальные блистеры, которые не требуется вскрывать выдавливанием (так называемые «peelable blister» – отклеивающийся блистер) или банки с уплотнителем или ватой медицинской; низкая инкорпорирующая АФС способность (как правило, в ОДТ содержится небольшое количество действующего вещества – до нескольких десятков миллиграммов) и высокая стоимость производства в случае использования методов, основанных на лиофилизации [85].

1.4. Особенности ОДТ и предъявляемые к ним требования

Простота применения, удобство терапии, повышенный комплаенс и привлекательные маркетинговые характеристики стимулируют разработку, патентование новых методов и технологий получения, а также вывод на рынок новых лекарственных препаратов в виде ОДТ. Однако, несмотря на преимущества обсуждаемого вида таблеток, среди ОДТ почти не встречаются оригинальные лекарственные препараты, а таблетки, диспергируемые в полости рта, редко становятся первой зарегистрированной ЛФ для инновационной АФС, что связано с некоторыми особенностями, которые необходимо учитывать при фармацевтической разработке данной ЛФ [85].

При разработке ОДТ необходимо учитывать ряд рекомендаций и требований, предъявляемых к АФС [63]:

- доза действующего вещества должна быть небольшой, что обусловлено рекомендациями по размеру ОДТ и инкорпорирующей способностью применяемых ВВ, однако встречаются ОДТ, содержащие АФС до 1000 мг; для некоторых технологий существуют верхние и нижние пределы количества вводимой АФС, например при лиофилизации;
- АФС должна сохранять стабильность в воде, слюне и желудочном соке;
- АФС не должна оказывать раздражающего действия на слизистую оболочку, ее кислотность должна быть приближена к нейтральной;
- желательно, чтобы АФС не обладала горьким или другим неприятным вкусом;
- прочие требования, связанные с конкретной технологией, например, растворимость или нерастворимость в определенных растворителях.

Размер ОДТ не должен создавать трудностей при приеме лекарственного препарата, в связи с чем не рекомендуется разработка слишком больших таблеток, при этом для удобства обращения ОДТ не должны быть слишком маленькими. FDA рекомендует, чтобы масса ОДТ не превышала 500 мг [84].

Для таблеток, диспергируемых в полости рта, предъявляются специфические требования к распадаемости. Согласно ГФ РФ, ОФС.1.4.1.0015.15 «Таблетки» ОДТ, полученные методом лиофилизации, должны распадаться в 200 мл воды при температуре от 15 до 25 °С в течение не более 3 минут. В монографии «Tablets» Европейской Фармакопеи для всех ОДТ регламентировано время распадаемости не более 3 минут в воде при испытании в соответствии с методикой, описанной в монографии «Disintegration of tablets and capsules», то есть в объеме до 1 л с применением аппарата А или В при температуре 37 ± 2 °С. FDA рекомендует устанавливать более жесткие требования ко времени распада таблеток для их отнесения к ОДТ, так согласно руководству [84] при испытании на распадаемость фармакопейным методом USP <701> ОДТ должны распадаться за время, не превышающее 30 с. При этом монографии Американской (USP), Британской (BP) и Японской (JP) Фармакопей регламентируют различные

требования ко времени распада и растворения ОДТ, соответствующие данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Требования фармакопей (Фармак.) к распадаемости и растворению ОДТ с учетом класса БКС и кислотно-основных (к/о) свойств

Фармак.	Монография	Класс БКС, к/о свойства	Распадаемость	Растворение
USP 41	Alprazolam Orally Disintegrating Tablets	I основание	Тест 1: 60 с Тест 2: 30 с	Тест 1: $\geq 80\%$ за 10 мин в 900 мл буфера pH 6,0 (апп. 2, 50 об/мин) Тест 2: $\geq 70\%$ за 10 мин в 500 мл буфера pH 6,0 (апп. 2, 50 об/мин)
	Aripiprazole Orally Disintegrating Tablets	IV амфолит с преобладанием основных свойств	60 с	$\geq 80\%$ за 30 мин в 1000 мл буфера pH 4,0 (апп. 2, 75 об/мин)
	Carbidopa and Levodopa Orally Disintegrating Tablets	III / I и I амфолиты с преобладанием кислотных свойств	60 с	$\geq 75\%$ за 10 мин в 750 мл 0,1М HCl (апп. 2, 50 об/мин)
	Cetirizine Hydrochloride Orally Disintegrating Tablets	I амфолит с преобладанием кислотных свойств	30 с	$\geq 80\%$ за 15 мин в 900 мл буфера pH 6,5 (апп. 2, 50 об/мин)
	Clonazepam Orally Disintegrating Tablets	II амфолит	60 с	$\geq 75\%$ за 60 мин в 900 мл воды (апп. 2, 50 об/мин)
	Desloratadine Orally Disintegrating Tablets	I основание	30 с	$\geq 80\%$ за 10 мин в 900 мл 0,1М HCl (апп. 2, 50 об/мин)
	Donepezil Hydrochloride Orally Disintegrating Tablets	I основание	60 с	$\geq 80\%$ за 30 мин в 900 мл 0,1М HCl (апп. 2, 50 об/мин)

Продолжение Таблицы 3

	Ondansetron Orally Disintegrating Tablets	II основание	10 с	$\geq 80\%$ за 10 мин в 500 мл 0,1М HCl (апп. 2, 50 об/мин)
	Loratadine Orally Disintegrating Tablets	II основание	Тест 1: 60 с Тест 2: 30 с	$\geq 80\%$ за 6 мин в 900 мл имитации желудочного сока (апп. 1, 50 об/мин)
	Mirtazapine Orally Disintegrating Tablets	II основание	60 с	$\geq 80\%$ за 15 мин в 900 мл 0,1М HCl (апп. 2, 50 об/мин)
	Risperidone Orally Disintegrating Tablets	II основание	Тест 1: 30 с Тест 2: 60 с	$\geq 80\%$ за 10 мин в 500 мл 0,1М HCl (апп. 2, 50 об/мин)
	Rizatriptane Benzoate Orally Disintegrating Tablets	III основание	-	Тест 1: $\geq 80\%$ за 5 мин в 900 мл воды (апп. 2, 50 об/мин) Тест 2: $\geq 80\%$ за 10 мин в 900 мл воды (апп. 2, 50 об/мин)
	Zolmitriptan Orally Disintegrating Tablets	III амфолит с преобладанием основных свойств	30 с	$\geq 80\%$ за 15 мин в 500 мл 0,1М HCl (апп. 2, 50 об/мин)
BP 2022	Orodispersible Loperamide Tablets	II основание	180 с	$\geq 75\%$ за 10 мин в 500 мл буфера pH 4.7 (апп. 2, 50 об/мин)
	Orodispersible Mirtazapine Tablets	II основание		$\geq 75\%$ за 45 мин в 900 мл 0,1М HCl (апп. 2, 50 об/мин)
	Orodispersible Olanzapine Tablets	II основание		$\geq 75\%$ за 15 мин в 900 мл 0,1М HCl (апп. 2, 50 об/мин)
	Rizatriptan Orodispersible Tablets	III основание		$\geq 80\%$ за 5 мин в 900 мл воды (апп. 2, 50 об/мин)

Продолжение Таблицы 3

	Sildenafil Orodispersible Tablets	II амфолит с преобладанием основных свойств		≥ 75 % за 15 мин в 900 мл 0,01М HCl (апп. 1, 100 об/мин)
	Vardenafil Orodispersible Tablets	II амфолит с преобладанием основных свойств		-
JP 16	Ebastine Orally Disintegrating Tablets	II основание	-	≥ 80 % за 15 мин в 900 мл среды номер 1* (апп. 2, 50 об/мин)

*раствор натрия хлорида в хлористоводородной кислоте с рН около 1,2

Согласно представленной таблице 3 для АФС с различными дозировками, растворимостью и проницаемостью устанавливаются различные требования ко времени дезинтеграции и условиям растворения соответствующих ОДТ. При этом большая часть монографий посвящена веществам с низкой растворимостью, то есть относящимся ко II и IV классам БКС. Данные соединения проявляют основные свойства, в связи с чем для контроля высвобождения в основном проводят испытания на растворение в кислой среде, обеспечивающей наиболее полный переход вещества в растворимую форму для дальнейшего определения его концентрации, а для веществ, относящихся к I и III классам БКС, применяются как растворы с низкими значениями рН, так и среды с кислотностью близкой к кислотности слюны и воды.

ОДТ-лиофилизаты являются высоко гигроскопичной ЛФ, в связи с чем их первичная упаковка должна быть изготовлена из влагонепроницаемых материалов. ГФ РФ, ОФС.1.4.1.0015.15 «Таблетки» регламентирует контроль остаточного содержания влаги и летучих веществ или воды в таблетках-лиофилизатах. Защита от влаги также может понадобиться для ОДТ, содержащих в своем составе гигроскопичные вещества (гигроскопичная АФС, смесь

органических кислот и карбонатов, сорбитол и другие ВВ), в связи с чем некоторые ОДТ нужно производить при пониженной влажности воздуха [65].

Для увеличения скорости распада ОДТ, применяются различные подходы, одними из которых являются уменьшение давления прессования и увеличение пористости получаемых таблеток, в связи с чем ОДТ, как правило, представляют собой хрупкие и легко истираемые твердые ЛФ. В рамках контроля технологического процесса производства таблеток ГФ РФ, ОФС.1.4.1.0015.15 «Таблетки» предусмотрен контроль прочности на раздавливание, которая должна составлять не менее 30 Н и истираемости, которая не должна превышать 3 % в случае использования прибора 1 и 1 % в случае применения прибора 2.

Таким образом, при разработке ОДТ необходимо учитывать не только природу действующего вещества, его физико-химические свойства, но и предполагаемое применение и способ получения ОДТ.

1.5. Методы получения ОДТ

Для получения ОДТ используются различные технологические подходы, включающие как традиционные методы получения таблеток (прямое прессование, различные виды грануляции и т.д.), так и относительно специфические для данной ЛФ, например, метод лиофилизации, который лег в основу первой запатентованной технологии получения ОДТ – Zydis® (R.P. Scherer Corporation, США) [130]. В процессе разработки методов получения ОДТ было запатентовано значительное количество технологий, краткая характеристика которых представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Патентованные методы получения ОДТ

Наименование технологии, разработчик	Технология	Ограничения/особенности	Источник
Методы, основанные на лиофилизации			
Zydis [®] , R.P. Scherer Corporation, США	Раствор или суспензию АФС в водорастворимом матриксе, состоящем из сахаров, как правило, маннитола и полимера: желатина, ПВП, альгиновой кислоты и других ВВ, разливают в предварительно сформированные блистеры, тем самым придавая форму таблетке, и далее подвергают лиофильной сушке, что обеспечивает образование пористой, легкой, быстро растворимой массы.	Количество нерастворимой АФС должно быть менее 400 мг, а растворимой – менее 60 мг на таблетку, при этом размер частиц АФС должен составлять менее 50 мкм. ОДТ, полученные с применением технологии Zydis [®] , особенно чувствительны к влаге и механическим воздействиям.	[86]
Lyoc [®] , Cephalon, Inc., США	Композиция (раствор или суспензия), состоящая из АФС, инертного наполнителя – маннитола, загустителей, ПАВ, ароматизаторов и подсластителей, подвергается лиофильной сушке в формообразующих блистерах.	Благодаря усовершенствованному составу технология Lyoc [®] позволяет получать ОДТ, содержащие более высокие дозы АФС, чем в Zydis [®] , но с большим временем распада.	[54]
Quicksolv [®] , Janssen Pharmaceuticals, Бельгия	Суспензия, раствор или эмульсия, состоящие из желатина, пектина, маннита, одной или нескольких аминокислот и АФС замораживаются, замороженную смесь обрабатывают вторым водоотнимающим растворителем (ацетон, метанол, этанол), что приводит к ее дегидратации, с последующим испарением растворителя.	Компоненты лиофилизата не должны растворяться в водоотнимающем растворителе. Полученные ОДТ обладают большей прочностью.	[90]

Продолжение Таблицы 4

NanoCrystal® и Nanomelt®, Elan Corporation plc, Ирландия	Данная технология позволяет получать мелкие частицы действующего вещества, как правило, менее 1 мкм в диаметре, которые производятся методом мокрого измельчения и стабилизируются путем поверхностной адсорбции. Коллоидные дисперсии АФС смешивают с водорастворимыми ВВ, заполняют в блистеры и лиофилизируют с образованием запатентованной ЛФ Nanomelt®.	Данная технология получения ОДТ особенно привлекательна при разработке ЛФ сильнодействующих и токсичных веществ, поскольку она позволяет избежать производственных операций (грануляция, смешивание и таблетирование), при которых образуется большое количество аэрозольного порошка. Ограничена масса АФС (до 200 мг на единицу).	[28]
Методы с использованием влажной грануляции			
Ractab®, Towa Pharmaceutical Co., Ltd., Япония	Гранулы получают в процессе сушки суспензии маннитола с кросповидоном и кукурузным крахмалом в псевдооживленном слое. Полученные гранулы смешиваются с АФС и микронизированной этилцеллюлозой, выступающей в качестве связующего, и прессуются при низком давлении.	За счет применения микронизированной этилцеллюлозы полученные ОДТ обладают высокой влагостойкостью и прочностью.	[17]
OraQuick®, KV Pharmaceutical Co., США	Распылительная сушка растворов различных сахаридов (полиолы и сахара) и белков (альбумин, желатин) в подходящем растворителе. Полученные гранулы далее смешиваются с другими ВВ и АФС, которая может быть включена в матричные микросферы по технологии MicroMask® с целью маскировки неприятного вкуса, и таблетированы при низких усилиях прессования.	Пористость образующихся гранул зависит от природы и количества растворителя. Прочность ОДТ обуславливается их спеканием при температуре от 50 до 100 °С, при этом удается получить пористую, но достаточно прочную ЛФ, способную к упаковке в обычные блистеры.	[90]

Продолжение Таблицы 4

<p>Wowtab[®], Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Япония</p>	<p>В данном методе используются два типа сахаров и/или их заменителей: с высокой способностью к формованию и следовательно, пролонгирующие высвобождение (сорбитол, мальтитол, мальтоза) и низкой прессуемости (глюкоза, сахароза, лактоза, маннитол, эритрит), и следовательно способствующие дезинтеграции ОДТ. АФС смешивают с наполнителем с низкой прессуемостью, затем гранулируют раствором сахара с высокой способностью к формованию, после чего прессуют в таблетки.</p>	<p>Получаемые данным методом ОДТ характеризуются быстрой распадаемостью (≤ 15 с), а также обладают достаточной прочностью, поэтому их можно упаковывать в обычные блистеры и флаконы.</p>	<p>[52]</p>
<p>Frosta[®], Akina Inc., США</p>	<p>АФС смешивается с мальтодекстрином Maltrin[®] (полисахарид, продукт частичного гидролиза крахмала) и маннитолом в грануляторе с высоким усилием сдвига с последующей грануляцией полученной смеси раствором сахарозы. Полученную пластичную массу пропускают через сито, сушат, опудривают и таблетуют.</p>	<p>Полученные ОДТ не требуют особых условий хранения и транспортирования, распадаются за 40 и менее секунд.</p>	<p>[66]</p>

Продолжение Таблицы 4

Прямое прессование			
<p>Ziplets[®], Actavis Generics, Ирландия</p>	<p>Данный метод заключается в прессовании смеси покрытой оболочкой АФС с нерастворимым в воде наполнителем (например, фосфат или гидрофосфат кальция), дезинтегрантами и водорастворимыми эксципиентами, однако, что не обязательно.</p>	<p>Данная технология позволяет получать ОДТ, содержащие относительно большие дозы вещества. Использование нерастворимого в воде эксципиента обеспечивает более быструю дезинтеграцию таблеток, чем растворимые в воде классические наполнители, что связано с образованием сахарами вязкого раствора вокруг ядра, препятствующего проникновению жидкости во внутренние слои ЛФ. Высокая скорость дезинтеграции ОДТ, содержащие фосфаты кальция, также может быть обусловлена очень низким краевым углом смачивания данного ВВ, что обеспечивает проникновение влаги внутрь таблетки.</p>	<p>[20, 95]</p>

Продолжение Таблицы 4

OraSolv [®] и DuraSolv [®] , Cima Labs Inc, США	Данные методы отличаются применяемым давлением прессования: для технологии OraSolv [®] оно ниже, чем для DuraSolv [®] , в связи с чем ОДТ, получаемые первым методом, характеризуются низкой прочностью и для их хранения и транспортировки была разработана запатентованная куполообразная первичная упаковка – PakSolv [®] , не требующая выдавливания содержимого. Оба метода получения ОДТ предусматривают нанесение оболочки на АФС с горьким вкусом в псевдооживленном слое и применение в качестве дезинтегрирующего агента в количестве от 20 до 25 % газообразующей смеси, состоящей из кислотного (лимонная, фумаровая, малеиновая кислоты) и основного (натрия, кальция, глицина карбонаты и гидрокарбонаты) компонентов.	Инкорпорирующая АФС способность данных технологий составляет до 500 мг. Время дезинтеграции таблетки не превышает 1 мин.	[87]
Flashtab [®] , Prographarm Group, Франция	Микроинкапсулированная желудочнорастворимым покрытием (в дражировочном котле, коацервацией, экструзией) АФС смешивается с предварительно гранулированными наполнителями и дезинтегрантами – МКЦ, крахмалами и газообразующей смесью – и подвергается прямому прессованию.	Полученные данным методом ОДТ обладают достаточной прочностью для выдавливания из обычных блистеров и временем распада, не превышающим 1 минуты, при этом таблетки достаточно гигроскопичны и подлежат упаковке во влагонепроницаемые материалы.	[99]

Продолжение Таблицы 4

<p>Advatab[®], Adare Pharmaceuticals, Inc., США</p>	<p>Данная технология предусматривает инкапсулирование с применением коацервации, при которой АФС, находящаяся в масляной фазе эмульсии типа м/в, покрывается тонкой оболочкой желудочнорастворимого полимера (фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, фталат ацетата целлюлозы, этилцеллюлоза), который предотвращает растворение горькой АФС в ротовой полости и растворяется в кислой среде желудка.</p>	<p>В технологии Advatab[®] также предусмотрена внешняя смазка (ExLub[®]), то есть нанесение опудривающих агентов на пуансоны и матрицы до их контакта с таблетлируемой смесью, что позволяет исключить или существенно уменьшить количество применяемой внутренней смазки, то есть классических гидрофобных ВВ, которые уменьшают прочность и увеличивают время дезинтеграции таблеток.</p>	<p>[52]</p>
--------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------

При разработке технологии получения ОДТ, содержащих значительное количество АФС и/или АФС с неудовлетворительными технологическими свойствами часто прибегают к классическим способам получения таблеток, основанным на направленном увеличении размера частиц действующего вещества, наиболее распространенным из которых является метод влажной грануляции [97]. Основными факторами, лимитирующими применение данного метода, являются: воздействие влаги и высоких температур на АФС, а также продолжительное время дезинтеграции получаемых ОДТ. С учетом последнего фактора критически важное значение приобретает выбор дезинтегранта, его количество и метод введения. Среди разрыхлителей в составах ОДТ применяются высокоэффективные супердезинтегранты: поперечно сшитый поливинилпирролидон и карбоксиметилцеллюлозы натриевой соли, прежелатинизированный крахмал и другие; их содержание, как правило, существенно и составляет от 5 до 20 и более % от таблеточной смеси. При влажной грануляции предпочтителен комбинированный способ введения дезинтегранта, при котором часть его гранулируется вместе с АФС, обеспечивая распад образующихся гранул, а частью опудривают смесь перед таблетированием, что обеспечивает дезинтеграцию самой таблетки на гранулы [2, 83].

В случае влагочувствительности и/или термочувствительности АФС прибегают к сухой или влагоактивизированной грануляции. Например, в работе [91] описан способ получения ОДТ фуросемида с улучшенными за счет сухой грануляции с ароматизаторами органолептическими свойствами. Избежать применения растворителей и воздействия высоких температур также позволяет грануляция из расплава, при которой смесь АФС с легкоплавким связующим (как правило, высокомолекулярные ПЭГ и их производные) после расплавления, быстрого затвердевания и измельчения, прессуется в таблетки. Например, в работе [21] описано применение ПЭГ-6-стеарата с температурой плавления от 33 до 37 °С в качестве связующего, которое в составе ОДТ в полости рта расплавляется, обеспечивая быстрое высвобождение АФС.

В настоящее время метод прямого прессования является наиболее востребованным способом получения таблеток и, в частности, ОДТ, поскольку является экономически выгодным, а также наиболее щадящим технологическим приемом формулирования [56]. Технологические возможности прямого прессования расширяются за счет использования высоко эффективных ВВ, способных улучшать реологические и фармацевтико-технологические характеристики АФС, и в особенности матриксов ОДТ – запатентованных носителей АФС и копроцессных ВВ, существенно упрощающих фармацевтическую разработку ОДТ [15, 36].

При разработке ОДТ могут применяться как классические наиболее распространенные методы получения таблеток, например, прямое прессование, различные методы грануляции, так и более специфичные технологические подходы, например, формование, заключающееся в прессовании при невысоком давлении увлажненной различными растворителями или расплавленной пластичной массы [56]. За счет своего состава формованные таблетки обеспечивают быструю дезинтеграцию, растворение и улучшенный вкус, но они имеют недостаток, заключающийся в низкой механической прочности. По сравнению с сублимационной сушкой, формованные таблетки проще в производстве и их легче масштабировать до промышленных масштабов, однако они уступают по времени дезинтеграции лиофилизированным формам [24].

Несмотря на то, что ОДТ содержат хорошо растворимые в воде ингредиенты, они часто не распадаются с достаточной скоростью из-за низкой пористости. В таких случаях сублимация может быть использована для ускорения распада ОДТ [67]. Для улучшения пористости могут быть использованы летучие вещества, такие как камфора, адипиновая кислота, карбонат и гидрокарбонат аммония, ментол, тимол, мочевины, которые сублимируются или распадаются на газы без остатка из сформированной таблетки при температуре от 40 до 60 °С или под вакуумом [82, 97]. Например, в работе [73] описан состав таблеток ацикловира и метод его получения, согласно которому лучшими характеристиками обладал состав, содержащий 5 % камфоры и смесь

кросповидона и кроскармеллозы, обеспечивающие полную дезинтеграцию таблеток за 4–6 сек.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

Структурные и функциональные особенности анкириновых каналов временного рецепторного потенциала 1 позволяют данным представителям обширной группы TRP каналов выполнять функцию универсальных, то есть воспринимающих сигналы различной природы – физической, химической, биологической природы – и лабильных, то есть способных к усилению и ослаблению сигнала под воздействием иных факторов – сенсibilизации, десенсibilизации – сенсоров альтерации, а также интеграторов болевых импульсов, поступающих от более специфичных рецепторов, ассоциированных с болью, воспалением, зудом и прочими симптомами патологических процессов.

Гиперстимуляция или продолжительная активация TRPA1 каналов в конечном итоге может приводить к нарушениям функции органов и снижению качества жизни, в связи с чем анкириновые TRP являются перспективной мишенью для лечения ряда нозологий, сопровождающихся воспалительными процессами и болью.

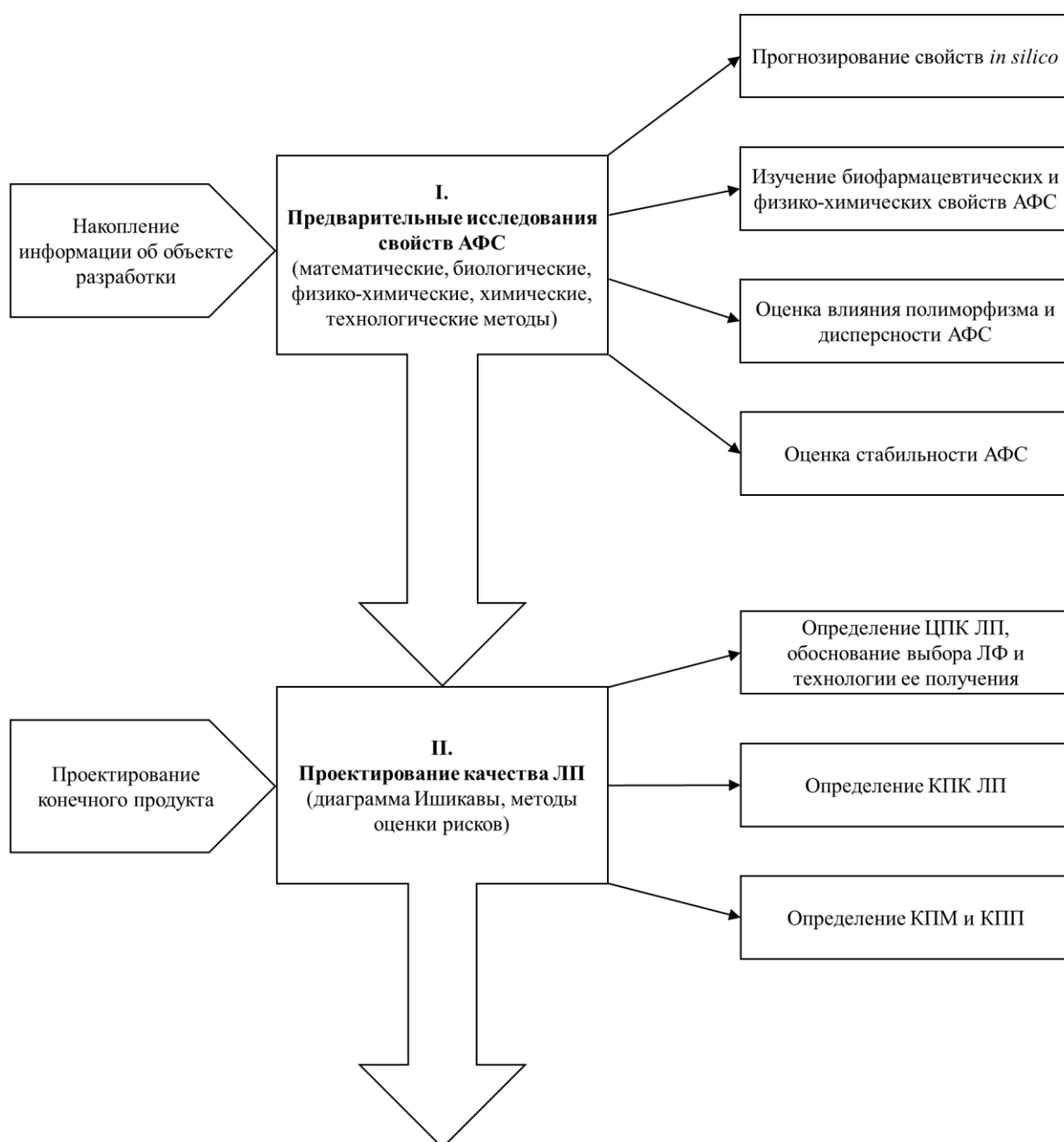
Среди наиболее востребованных, твердых дозированных ЛФ выделяются таблетки, диспергируемые в полости рта, совмещающие в себе преимущества как твердых дозированных, так и жидких ЛФ, что делает их привлекательным методом доставки широкой номенклатуры ЛС, в том числе анальгетических и противовоспалительных. При этом, при разработке ОДТ необходимо учитывать ряд рекомендаций и ограничивающих факторов, как в отношении формулируемой АФС, так и ЛФ в целом.

Методы получения ОДТ достаточно разнообразны и включают значительное количество патентованных технологий и различных готовых коммерчески доступных матриц для формулирования АФС, однако наиболее востребованными остаются классические методы получения таблеток, такие как влажная грануляция и прямое прессование, для реализации которого доступно значительное множество ВВ с большим разбросом физико-химических и технологических характеристик.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Структура исследования

Диссертационное исследование было выполнено в соответствии с принципами, изложенными в руководстве ICH Q8 «Фармацевтическая разработка», на основе разработанного дизайна эксперимента. Основные этапы и примененные соответствующие методы исследования представлены на рисунке 2.



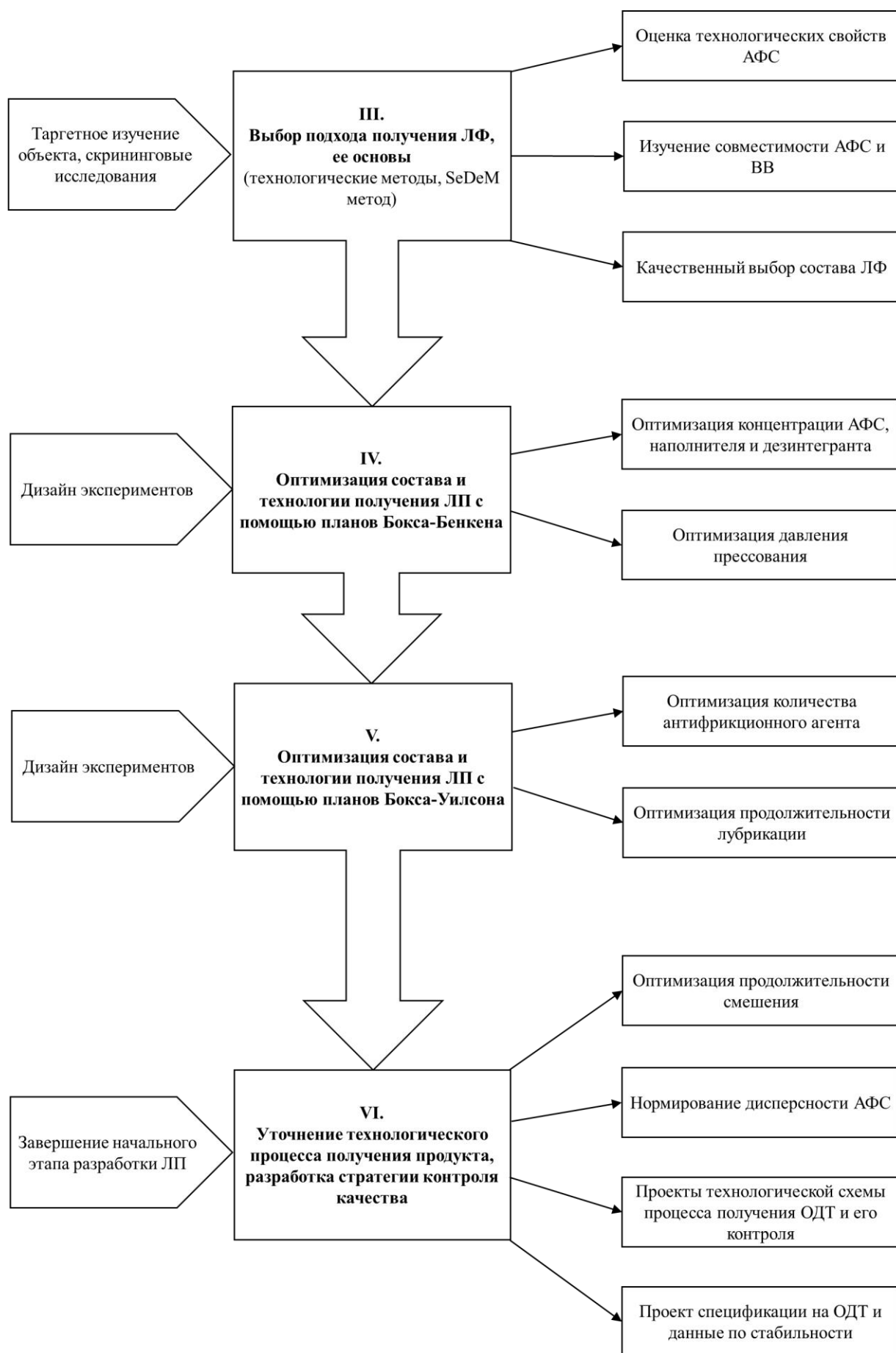
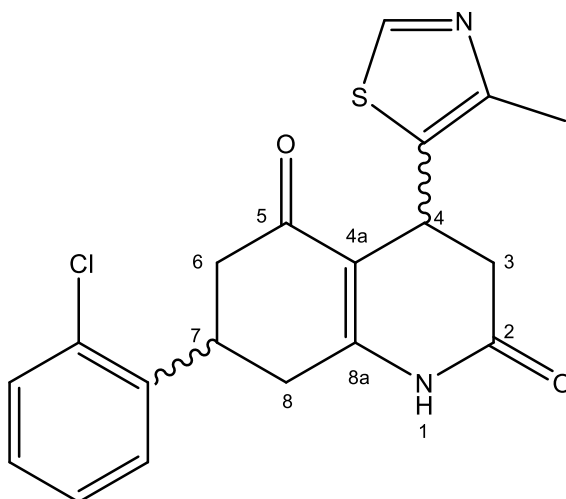


Рисунок 2 – Структура исследования

Работа была выполнена в Центре фармацевтических технологий ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). В основе исследовательской работы был положен комбинированный подход к фармацевтической разработке ЛФ, включающий в себя эмпирические методы и структурированный, систематический подход на основе оценки рисков и дизайна экспериментов.

2.2. Объекты исследования

Объектом основного исследования выступало оригинальное биологически активное вещество – производное ФТГХД – 7-(2-хлорофенил)-4-(4-метил-1,3-тиазол-5-ил)-4,6,7,8-тетрагидрохинолин-2,5(1H,3H)-дион. Данное соединение было синтезировано и впервые подверглось фармакологическим исследованиям в ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». В исследованиях *in vitro* для данного соединения была показана высокая ингибирующая активность в отношении рецепторов TRPA1 (IC_{50} 91,3 нмоль/л), низкая кардиотоксичность и гепатотоксичность [109]. Исследования острой токсичности на мышах позволили отнести производное ФТГХД к практически нетоксичным веществам по классификации Hodge et al. В доклинических исследованиях производное ФТГХД продемонстрировало анальгетическую активность, превосходящую таковую у референтного препарата Кеторол[®], а также противовоспалительное действие, сопоставимое по выраженности с диклофенаком [4]. Структурная формула производного ФТГХД с TRPA1-антагонистической активностью представлена на рисунке 3.



7-(2-chlorophenyl)-4-(4-methylthiazol-5-yl)-4,6,7,8-tetrahydroquinoline-2,5(1*H*,3*H*)-dione
 Chemical Formula: C₁₉H₁₇ClN₂O₂S
 Molecular Weight: 372,87

Рисунок 3 – Структурная формула производного ФТГХД с TRPA1-антагонистической активностью в кетолактаманной форме

Исследуемое соединение представляет собой амфолит со слабыми кислотными свойствами, реализующимися за счет наличия подвижного атома водорода лактамной группы и слабыми основными свойствами за счет наличия неподеленной электронной пары атома азота пиридинового типа в тиазольном кольце. Основные свойства производного ФТГХД, в частности, позволяют определять его количественное содержание в АФС методом неводного титрования хлорной кислотой в среде уксусной кислоты ледяной. Будучи циклическим α,β -ненасыщенным кетоном и лактамом, для исследуемого соединения характерна кето-енольная и лактим-лактаманная таутомерия. Производное ФТГХД является хиральным соединением, которое за счет наличия двух асимметрических атомов углерода в 4 и 7 положении тетрагидрохинолинового кольца, может существовать в виде четырех стереоизомеров (двух пар диастереомеров). В хроматографических исследованиях с использованием хиральной колонки было показано, что исследуемая АФС производного ФТГХД представляет собой смесь всех четырех возможных стереоизомеров в приблизительно равном соотношении, что говорит об отсутствии стереоселективности химических реакций

протекающих в процессе синтеза АФС [104], при этом молекулярный докинг показал схожие результаты аффинности всех четырех стереоизомеров производного ФТГХД в отношении рецептора TRPA1 [109], в связи с чем дальнейшие исследования и фармацевтическая разработка ЛФ проводились на рацемате. Кроме того, контроль соотношения диастереомерных пар в смеси осуществляется в соответствии с проектом нормативного документа по качеству на АФС. Схема синтеза АФС представлена на рисунке 4.

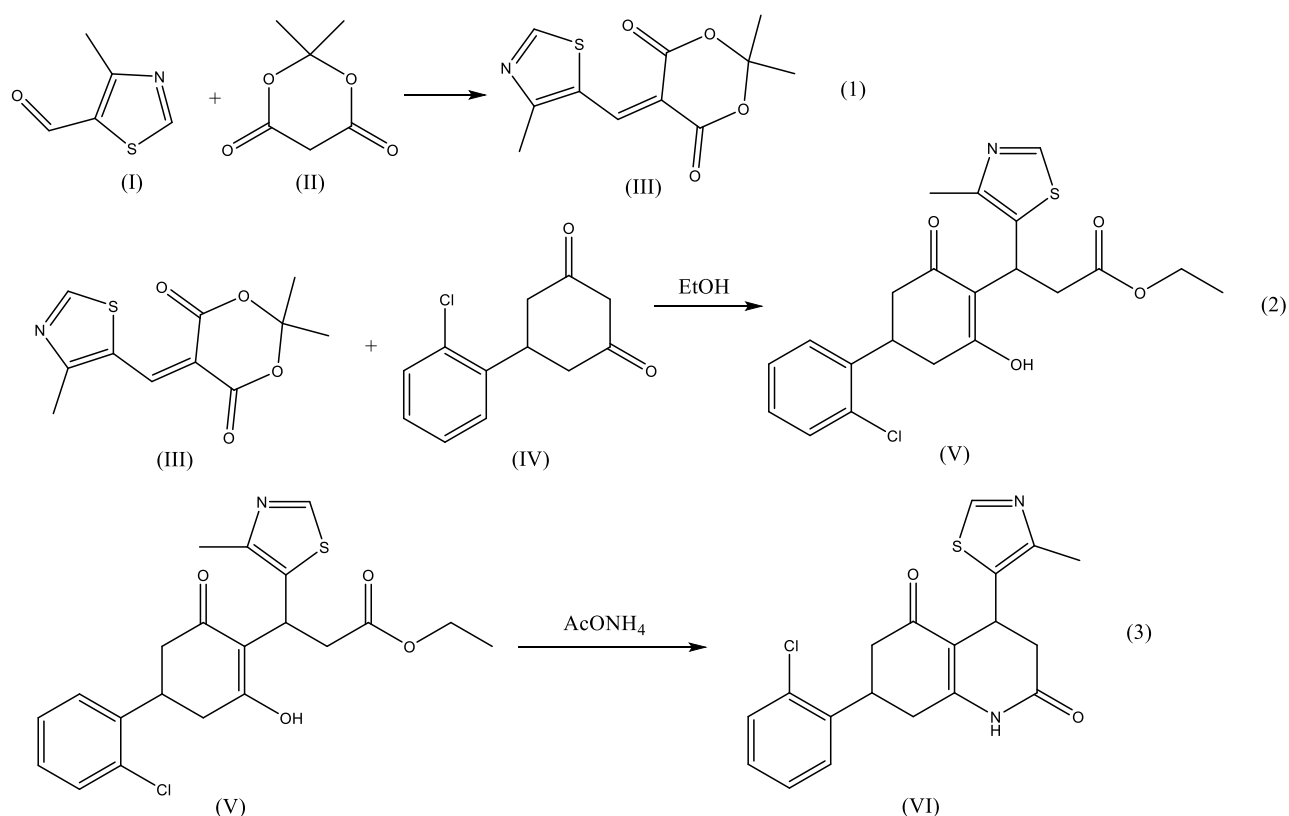


Рисунок 4 – Схема синтеза производного ФТГХД

Синтез АФС осуществляется в три стадии, на первой из которых в результате реакции конденсации 4-метил-1,3-тиазол-5-карбальдегида (I) с кислотой Мельдрума – 2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-дионом (II) – образуется 2,2-диметил-5-[(4-метил-1,3-тиазол-5-ил)метилден]-1,3-диоксан-4,6-дион (III). На второй стадии продукт нуклеофильного присоединения с последующей дегидратацией (III) вступает в реакцию электрофильного присоединения с 5-(2-хлорофенил)-3-гидроксициклогекс-2-ен-1-оном (IV), которая сопровождается

переэтерификацией этанолом и декарбоксилированием с образованием этил-3-[4-(2-хлорофенил)-2-гидрокси-6-оксоциклогекс-1-ен-1-ил]-3-(4-метил-1,3-тиазол-5-ил)пропаноата (V). На последней стадии синтеза полученный сложный эфир (V) подвергается аммонолизу и внутримолекулярной конденсации в присутствии ацетата аммония с образованием лактама – 7-(2-хлорофенил)-4-(4-метил-1,3-тиазол-5-ил)-4,6,7,8-тетрагидрохиолин-2,5(1H,3H)-диона (VI). Полученное в виде осадка производное ФТГХД промывают трет-Бутилметилловым эфиром, очищают с помощью флэш-хроматографии с использованием хлороформа и метанола, кристаллизуют и сушат [16, 69].

Получаемый продукт представляет собой порошок почти белого цвета. Проект спецификации на 7-(2-хлорофенил)-4-(4-метил-1,3-тиазол-5-ил)-4,6,7,8-тетрагидрохиолин-2,5(1H,3H)-дион представлен в таблице 5 [9].

Таблица 5 – Проект спецификации на производное ФТГХД с TRPA1-антагонистической активностью

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний
Описание	Порошок почти белого цвета, допускается наличие желтоватого или розоватого оттенка	Визуальный
Растворимость	Умеренно растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в воде и гексане	ГФ РФ* или ФЕАЭС
Идентификация	ИК-спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом в области от 4000 до 400 см ⁻¹ , по положению полос поглощения должен соответствовать прилагаемому рисунку спектра СО	ИК-спектроскопия
	УФ-спектр поглощения 0,001 % раствора АФС в метаноле в области длин волн от 220 до 380 нм должен иметь максимум при 292 ± 2 нм и минимум при 234 нм ± 2 нм	УФ-спектрофотометрия

Продолжение Таблицы 5

Родственные примеси	Любая единичная неидентифицированная примесь – не более 0,1 %; сумма примесей – не более 0,5 %	ВЭЖХ
Соотношение пар стереоизомеров	50 ± 2 % каждой пары стереоизомеров	ВЭЖХ
Сульфатная зола	Не более 0,1 %	ГФ РФ* или ФЕАЭС
Тяжелые металлы	Не более 0,001 %	ГФ РФ* или ФЕАЭС
Вода	Не более 0,5 %	ГФ РФ* или ФЕАЭС, метод К. Фишера
Остаточные органические растворители	Этанол – не более 0,5 %; Этилацетат – не более 0,5 %; Уксусная кислота – не более 0,5 %; Трет-Бутилметиловый эфир – не более 0,5 %; Метанол – не более 0,3 %	ГХ, метод 1
	Хлороформ – не более 0,006 %	ГХ, метод 2
Микробиологическая чистота	Категория 2.2	ГФ РФ* или ФЕАЭС
Количественное определение	Не менее 98,0 % и не более 102,0 % $C_{19}H_{17}ClN_2O_2S$ (ФТГХД) в пересчете на безводное и свободное от органических растворителей вещество	Титриметрия (неводное титрование)

*ссылки приведены на ГФ РФ XIV издания

В соответствии с руководством ICH Q8 «Фармацевтическая разработка» и Правилами регистрации и экспертизы лекарственных средств выбор вспомогательных веществ в процессе фармацевтической разработки должен быть функционально обоснован. При разработке ЛФ, содержащей производное ФТГХД, были использованы рекомендации «Handbook of Pharmaceutical Excipients» («Справочник по вспомогательным веществам») и руководства Европейского медицинского агентства (EMA) «Guideline on excipients in the dossier for application for marketing authorization of a medicinal product» («Руководство по вспомогательным веществам в регистрационном досье для

подачи заявления на выдачу регистрационного удостоверения для лекарственного препарата») по выбору, совместимости, контролю качества и условиям хранения ВВ. В качестве наполнителей были оценены такие широко используемые разбавители, как маннитол Parreck M 200 (Ph. Eur., Merck KGaA, Германия), сорбитол Parreck SI 200 (Ph. Eur., Merck KGaA, Германия), МКЦ 102 VIVAPUR® 102 (Ph. Eur., JRS PHARMA GmbH & Co. KG, Германия), лактозы моногидрат SuperTab 14SD (Ph. Eur., DMV-Fonterra Excipients GmbH & CO. KG, Германия). Среди дезинтегрантов были оценены: кросповидон Polyplasdone XL-10 (Ph. Eur., Ashland Global Holdings, США), кроскармеллоза Primellose (Ph. Eur., DMV-Fonterra Excipients GmbH & CO. KG, Германия), натрия крахмала гликолят Primojel® (Ph. Eur., DMV-Fonterra Excipients GmbH & CO. KG, Германия). Антифрикционные агенты: магния стеарат (USP-NF, Calmags GmbH, Германия), натрия стеарилфумарат PRUV® (Ph. Eur., JRS PHARMA GmbH & Co. KG, Германия), тальк (ГФ РФ, Thermo Fisher Scientific, США). Корригенты: аспартам (USP-NF, Changzhou Guanghui Food Ingredients Co., Ltd., Китай), ароматизатор лимонный (НД производителя, ABELEI INC, США).

Реактивы и растворители использовавшиеся в процессе исследования были квалификации Sigma-Aldrich, США, если не указано иное.

2.3. Методы исследования

2.3.1. Планирование эксперимента и статистические методы анализа

Для оценки пригодности АФС к прямому прессованию, а также для выбора наиболее оптимального модельного состава был применен математический метод SeDeM (Sediment Delivery Model, также именуемый методом круговых диаграмм), который часто применяется в предварительных исследованиях порошкообразных действующих и вспомогательных веществ для определения тех физико-химических и технологических параметров материала, которые нуждаются в корректировке для осуществления прямого прессования [3]. Данный метод

заключается в установлении ряда критичных для прессования свойств веществ или их смесей с последующим построением круговых диаграмм и расчетом математических индексов. АФС и модельные смеси были оценены по 12 технологическим параметрам (параметры 1 – 12 в таблице 6) и модельные смеси по дополнительным 6 КПК проектируемого ЛП (параметры 13 – 18 в таблице 6). Полученные экспериментальные значения (V) были переведены в безразмерные величины – радиусы круговой диаграммы, максимальное значение которых равнялось 10, по формулам согласно таблице 6.

Таблица 6 – Параметры для построения диаграммы SeDeM

№	Параметр	Обозначение, ед. измерения	Диапазон значений	Формула расчета радиуса диаграммы
1	Насыпная плотность без уплотнения	ρ_0 , г/мл	0 – 1	$10 \times V$
2	Насыпная плотность после 1250 соскоков	ρ_1 , г/мл	0 – 1	$10 \times V$
3	Коэффициент прессуемости	CI, %	50 – 0	$10 - V / 5$
4	Коэффициент Хауснера	HR	3 – 1	$10 - 10 \times V / 3$
5	Сыпучесть	F, г/с	0 – 12	$V / 1,2$
6	Угол естественного откоса	A, °	50 – 0	$10 - V / 5$
7	Прессуемость (прочность на раздавливание)	C, Н	0 – 200	$V / 20$
8	Потеря в массе при высушивании	L, %	5 – 0	$10 - V \times 2$
9	Гигроскопичность	H, %	20 – 0	$10 - V / 2$
10	Частицы размером менее 50 мкм	P, %	100 – 0	$10 - V / 10$
11	Внутренняя пористость	I	0 – 1,2	$10 \times V / 1,2$
12	Разброс частиц по размерам	S	10 – 0	$10 - V$
13	Распадаемость	DT, с	60 – 0	$10 - V / 6$
14	Время смачивания	WT, с	120 – 0	$10 - V / 12$

Продолжение Таблицы 6

15	Степень водопоглощения	WAR, %	200 – 0	$10 - V / 20$
16	Растворение	Re, %	0 – 100	$V / 10$
17	Однородность массы (среднее отклонение)	WV, %	7,5 – 0	$10 - 10 \times V / 7,5$
18	Истираемость	Fr, %	1 – 0	$10 - V \times 10$

Чем большее значение имеет радиус – тем ближе значение данного параметра к «идеальному», таким образом диаграмма порошка пригодного для прямого прессования по форме стремится к кругу (рисунок 5).

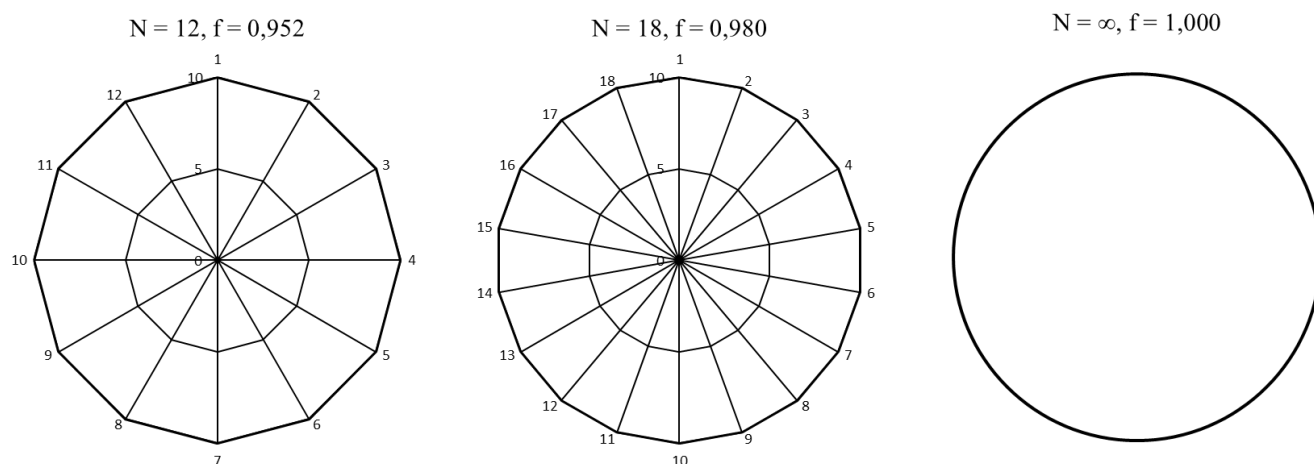


Рисунок 5 – Круговые диаграммы SeDeM, f – отношение площади фигуры к площади круга с эквивалентным радиусом

При этом, чем больше факторов подвергается исследованию – тем больше достоверность полученных данных.

После определения радиусов диаграмм SeDeM рассчитывали основные параметры для общей оценки пригодности порошкообразного материала для прямого прессования или таблетуемости в ОДТ. Параметрический индекс (IP) определяли как долю параметров с радиусом более 5,0 к общему числу параметров. Параметрический индекс профиля (IPP) рассчитывали, как среднеарифметический радиус всех параметров. Индекс хорошего прессования (GCI) определяли путем умножения параметрического индекса профиля на фактор надежности (f), который зависит от количества учитываемых параметров

(рисунок 5). Для всех параметров и индексов, кроме IP, допустимое значение составляет 5,0 и более единиц, для IP – 0,5 и более единиц.

Поскольку проконтролировать качество каждой единицы лекарственного препарата на практике невозможно, в соответствии с принципом QbD качество должно быть заложено при проектировании данного ЛП. В процессе фармацевтической разработки должны быть определены те аспекты АФС, ВВ, технологии получения ЛФ, упаковки, условий хранения и применения, которые критичны для эффективности и безопасности ЛП, а также обоснована соответствующая стратегия контроля процесса производства конечного продукта. Кроме того, в последнее время большое значение уделяется возможности придания пластичности процессу производства, модуляций технологических параметров и входных характеристик материалов, которые не приводят к изменению качества конечного продукта, то есть так называемой работе в области проектного поля [45]. Для установления подобных рамок необходимо углубленное изучение характеристик и поведения ЛП в широком диапазоне свойств исходных материалов и параметров процесса. Для получения подобных знаний, в частности, может быть применен метод формальных экспериментальных дизайнов (дизайн экспериментов). Дизайн экспериментов – структурированный, организованный метод, позволяющий определить зависимости между входными параметрами (факторами) процесса и выходом (результатами) такого процесса. Поскольку в фармацевтической разработке необходимо учитывать большое разнообразие различных факторов, условий и их взаимодействий, считается рациональным применение математических методов планирования и анализа экспериментов [44].

В 1951 году Д.Э.П. Бокс и К.Б. Уилсон предложили подход, получивший название «методология поверхностного отклика», который позволяет на основе разработанных экспериментов установить отношения между несколькими факторами и одним или несколькими откликами (выходными параметрами), а также на основе полученных данных оптимизировать изученный процесс [34].

Для описания данных зависимостей Боксом и Уилсоном предложена полиномиальная модель второго порядка, которая для трех факторов имеет вид:

$$y = \beta_0 + \beta_1 \times A + \beta_2 \times B + \beta_3 \times C + \beta_{11} \times A^2 + \beta_{22} \times B^2 + \beta_{33} \times C^2 + \beta_{12} \times A \times B + \beta_{23} \times B \times C + \beta_{13} \times A \times C,$$

где y – выходная переменная (отклик); β_0 – постоянная (отрезок прямой); $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ – линейные коэффициенты; $\beta_{12}, \beta_{23}, \beta_{13}$ – коэффициенты взаимодействия между независимыми переменными; $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$ – квадратичные коэффициенты; A, B, C – независимые переменные (факторы).

Для получения полинома второго порядка может быть использован полнофакторный или дробный факторный эксперимент, однако для их реализации требуется значительное количество поставленных опытов, в связи с чем были разработаны методологические подходы к планированию трехуровневых экспериментов (планы), позволяющие сократить необходимое количество опытов без значимой потери достоверности полученных результатов. Одним из таких подходов является метод (планы) Бокса-Бенкена [35]. В рамках данного исследования указанный метод был применен для изучения влияния концентрации АФС и кросповидона, а также давления прессования на КПК проектируемого ЛП, для чего: были выбраны уровни варьирования факторов (две равноудаленные точки от среднего значения), переведены в закодированный вид (-1; 0; +1), построена матрица планирования, в соответствии с которой были поставлены опыты, проведен статистический анализ полученных результатов и получены регрессионные уравнения. Факторное пространство планов Бокса-Бенкена для трех зависимых переменных представлено на рисунке 6. В планах Бокса-Бенкена экспериментальные точки (уровни факторов) располагаются в середине ребер и в центре куба, образующего факторное пространство.

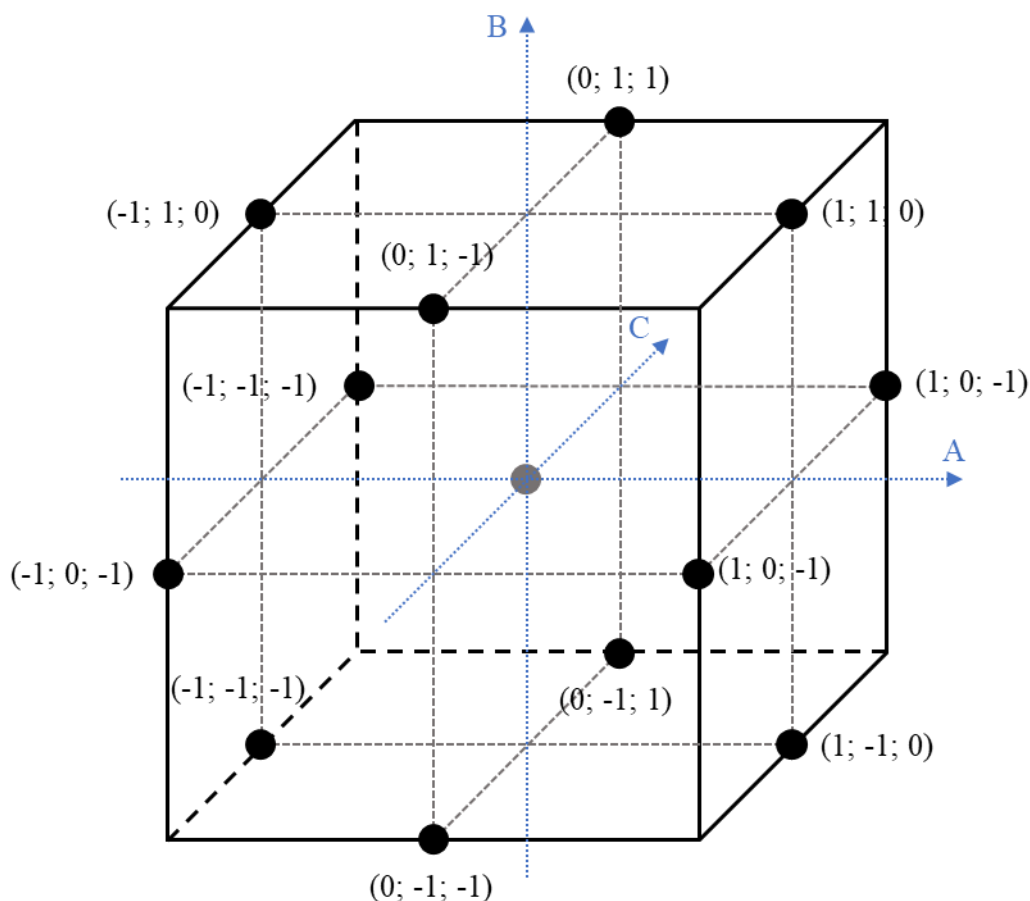


Рисунок 6 – Факторное пространство планов Бокса-Бенкена для трех предикторов

12 ребер соответствуют 12 экспериментальным точкам, в которых варьируются факторы А, В, С (черные точки), 13-я точка располагается в центре куба и соответствует средним значениям факторов (серая точка). Для оценки дисперсии получаемых результатов центральная точка, как правило, выполняется в трех повторностях, что в сумме дает 15 экспериментальных точек для трех факторов.

Еще одним подходом, позволяющим уменьшить количество проводимых опытов, которое необходимо для получения полиномиальной модели, является метод Бокса-Уилсона [29]. В рамках данного исследования указанный подход был применен для установления влияния концентрации антифрикционного агента и продолжительности его смешения с остальными компонентами на КПК проектируемого ЛП. Аналогично планам Бокса-Бенкена в методе Бокса-Уилсона для оценки дисперсии предикторов используются реплики, то есть опыты с

одинаковыми уровнями факторов, которые также располагаются в центре факторного пространства. Отличительной особенностью данного метода является включение в факторное пространство дополнительных равноудаленных и превышающих в безразмерных величинах нижний и верхний уровень факторов «звездных точек» (на рисунке 7 обозначены в виде звезд), а также большим количеством опытов, соответствующих нулевым значениям уровней [32]. Факторное пространство планов Бокса-Уилсона для двух зависимых переменных представлено на рисунке 7.

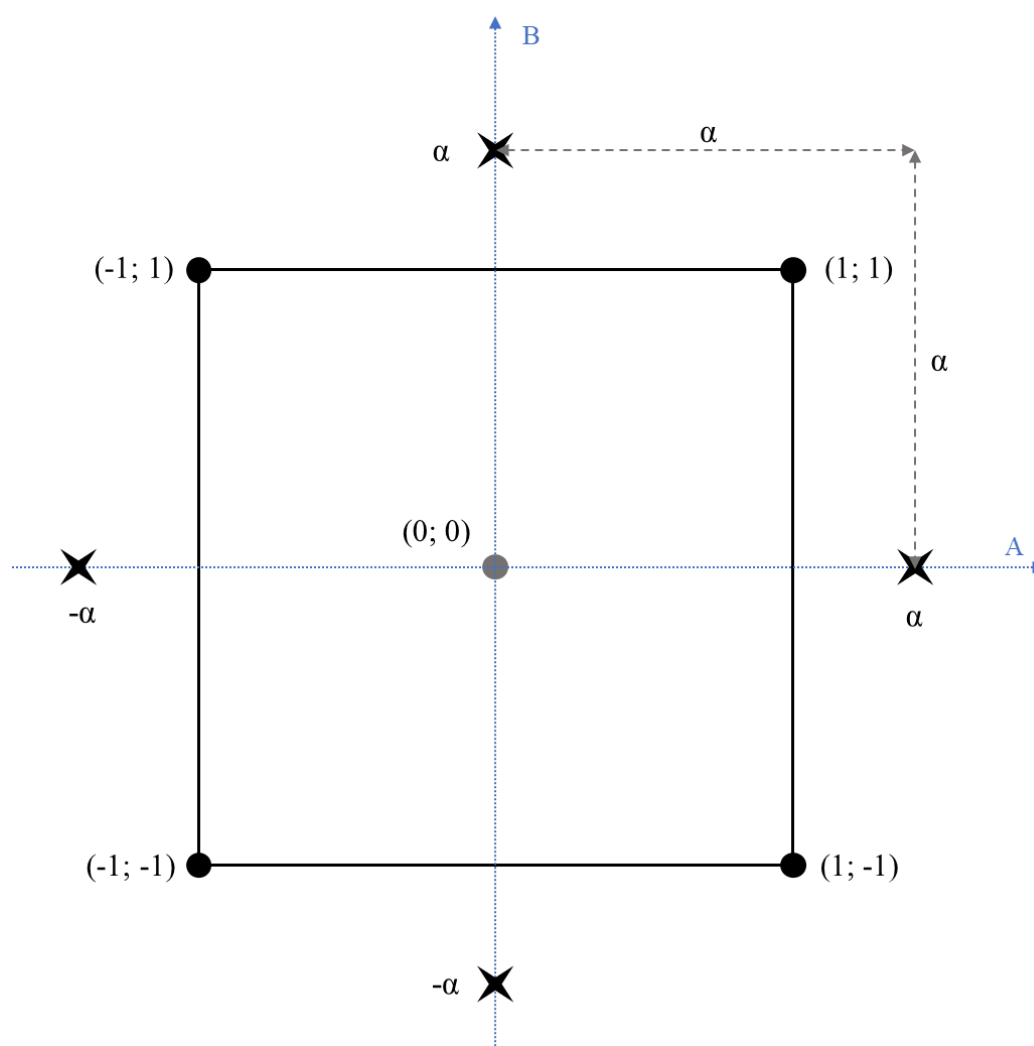


Рисунок 7 – Факторное пространство планов Бокса-Уилсона для двух предикторов

Статистический анализ результатов, полученных при изучении влияния предикторов на КПК проектируемого ЛП, а также построение графиков

поверхностного отклика, были осуществлены с помощью пакета программ Minitab (Minitab Inc., США).

2.3.2. Изучение кишечной проницаемости

Изучение кишечной проницаемости АФС было проведено на базе АО «МираксБиоФарма» на культуре клеток аденокарциномы толстого кишечника – Caco-2 (American Type Culture Collection, кат. № HTB-37, США) по направлению из апикальной в базолатеральную область и в обратном направлении с помощью планшетов с двухкомпонентными ячейками Millicell-96 (Millipore, кат. № PSHT004S5, США). Схематическое устройство ячейки планшета представлено на рисунке 8.

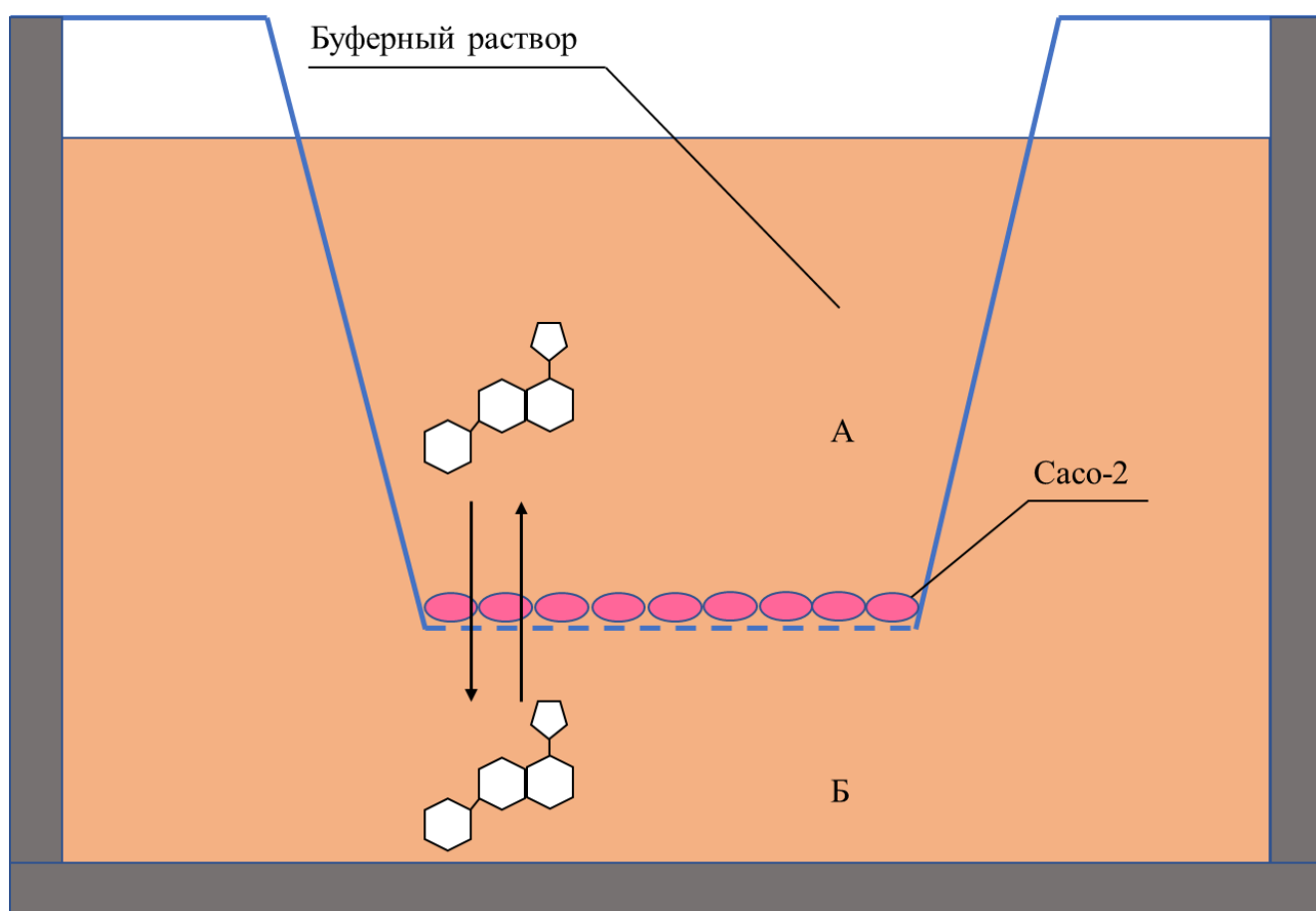


Рисунок 8 – Схема ячейки транспортной плашки, А – апикальная область, Б – базолатеральная область

Выбор изучаемой концентрации АФС проводили в соответствии с руководством FDA по изучению проницаемости веществ *in vitro* [53], согласно которому для подтверждения пассивного механизма транспорта вещества через биологические мембраны его проницаемость не должна зависеть от исходной концентрации в диапазоне 0,01-; 0,1-; 1-кратной максимальной дозы, растворенной в 250 мл воды. Таким образом, с учетом рассчитанной дозы ФТГХД для человека равной 10 мг [8], испытываемые концентрации АФС составили 0,4, 4 и 40 мкг/мл. Однако, оценка растворимости производного ФТГХД показала невозможность при нормальных условиях достижения концентрации 4 мкг/мл и выше, в связи с чем было проведено повторное исследование проницаемости в концентрациях: 0,001, 0,01 и 0,1 мкг/мл.

В качестве стандартов с известной проницаемостью, рекомендованных FDA для оценки степени абсорбции веществ через кишечную стенку, были использованы: ранитидин (Sigma Aldrich, США, кат. № R101) с низкой проницаемостью, относящийся к III классу БКС и пропранолол (Sigma Aldrich, США, кат. № P0884) с высокой проницаемостью, относящийся к I классу БКС. Для оценки сродства изучаемого вещества к транспортерам был использован родамин 123 (Sigma Aldrich, США, кат. № R8004), являющийся субстратом транспортера Р-гликопротеина и его ингибитор – циклоспорин А (Alfa Aesar, США, кат. № J63191.03).

Культивирование клеток Сасо-2 проводилось в соответствии с рекомендациями American Type Culture Collection и Millipore во флаконах на 75 см² при 37 °С и среде 5 % углерода диоксида. Среда культивирования состояла из Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Thermo Fisher Scientific, кат. № 11965084), 10 % бычьей сыворотки (HyClone, кат. № SH30070.03), 0,0584 % L-глутамин (ПанЭко, кат. № Ф032), 100 ЕД/мл пенициллина, 0,01 % стрептомицина (ПанЭко, кат. № А065), 2 % незаменимых аминокислот (ПанЭко, кат. № Ф116). Клетки пересеивали 2 раза в неделю в соотношении 1:6. По истечении 10–50 пассажей в состоянии 80–90 % покрытия флакона клетки помещали в планшеты с двухкомпонентными ячейками Millicell-96 в количестве 10000 на 0,11 см² лунки.

Клетки инкубировали в течение 21 дня со сменой среды 2 раза в неделю в первые 2 недели и 3 раза в последнюю. Целостность монослоя клеток устанавливали посредством измерения трансэпителиального электрического сопротивления (нормируемое значение составляло не менее 3 кОм/лунку) с помощью прибора Millicell-ERS (Millipore, кат. № MERS00001, США).

Для оценки проницаемости веществ из апикальной в базолатеральную область добавляли 0,09 мл буферных растворов, содержащих АФС или стандарт проницаемости в верхние лунки с фильтрами и по 0,25 мл буферного раствора без добавления веществ в лунки нижнего планшета. При изучении проницаемости из базолатеральной в апикальную область помещали по 0,25 мл буферных растворов, содержащих тестируемое вещество в нижние лунки и по 0,09 мл буферных растворов без веществ в верхние лунки планшета. Эксперимент проводили в трех повторностях. Собранный планшет инкубировали в течение 2 ч при 37 °С на шейкере при 300 об/мин. По истечении указанного времени разъединяли верхнюю и нижнюю части планшета. Отбирали 0,07 мл буферного раствора из верхней и нижней частей планшета в отдельные пробирки в штативе, затем в каждую добавляли 0,21 мл охлажденного до +4 °С раствора ацетонитрила в воде очищенной (1:1) и 200 нг/мл внутреннего стандарта толбутамида (Sigma Aldrich, США, кат. № T0891). До определения количественного содержания образцы хранили при температуре не выше минус 70 °С.

Определение концентрации ФТГХД и стандартов проницаемости проводили методом ультраэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (УЭЖХ-МС/МС) с помощью системы, состоящей из жидкостного хроматографа Agilent 1290 Infinity UPLC (Agilent, США) и масс-спектрометра QTRAP 5500 (Sciex, США) с тройным квадруполем и электрораспылительным модулем TurboIonSpray.

Хроматографические условия:

Метод внутреннего стандарта (внутренний стандарт – толбутамид);

Хроматографическая колонка: YMC-Triart C8, 50 мм × 2 мм;

Подвижная фаза: градиентное элюирование; подвижная фаза А: 0,1 % водный раствор муравьиной кислоты, подвижная фаза В: 0,1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле;

Градиентная программа:

Время, мин	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза В, %
0,0	50	50
1,0	5	95
1,6	5	95
1,7	50	50
2,9	50	50

Скорость потока 0,5 мл/мин; температура колонки 40 °С; температура автосамплера 8 °С; объем вводимой пробы 0,3 мкл; приблизительное время удерживания ФТГХД – 0,48 мин, толбутамида – 0,62 мин.

Параметры масс-спектрометрии:

Тип источника ионов Turbo Ion Spray; режим ионизации положительный; температура источника 450 °С; напряжение в источнике 5,5 кВ; газ-завеса 0,207 МПа; газ-небулайзер 0,379 МПа; газ-нагреватель 0,172 МПа; потенциал на входе в ячейку соударений 10 В.

Вещество	Q1/Q3 переход	Время выдержки, мс	Декластеризующий потенциал, В	Энергия соударений, эВ
Толбутаимид	271,0 / 74,0	40	136	17
	271,1 / 91,0			41
ФТГХД	373,1 / 339,1	50	50	39
	373,1 / 312			36

Для расчета кажущегося коэффициента проницаемости (P_{app} , см/с) использовали площади под хроматографическими пиками аналитов, нормированные на сигнал внутреннего стандарта:

$$P_{app} = \left(\frac{V_A}{S \times T} \right) \times \left(\frac{C_A(t)}{C_D(0)} \right),$$

где V_A – объем буферного раствора в акцепторной лунке, который равен 0,25 мл для транспорта из апикальной в базолатеральную область и 0,09 мл для проницаемости из базолатеральной в апикальную область, S – площадь поверхности лунки, которая составляет 0,11 см² для планшета Millicell-96, T – время изучения проницаемости (7200 с), $C_A(t)$ – площадь пика, нормированная на сигнал внутреннего стандарта для акцепторной лунки после эксперимента, $C_D(0)$ – площадь пика, нормированная на сигнал внутреннего стандарта для исходного раствора вещества в донорной лунке.

Коэффициент эффлюкса (КЭ), показывающий разницу в проницаемости, возникающую за счет активного транспорта, рассчитывали по формуле:

$$КЭ = \frac{P_{app (B-A)}}{P_{app (A-B)}},$$

где $P_{app (B-A)}$ – кажущийся коэффициент проницаемости при транспорте из базолатеральной в апикальную область, $P_{app (A-B)}$ – кажущийся коэффициент проницаемости при транспорте из апикальной в базолатеральную область.

Массовый баланс, выраженный в виде извлечения, по окончании эксперимента рассчитывали по формуле:

$$\text{Извлечение (\%)} = 100 \times \left(\frac{C_A(t) \times V_A + C_D(t) \times V_D}{C_D(0) \times V_D} \right),$$

где $C_A(t)$ – площадь пика, нормированная на сигнал внутреннего стандарта для акцепторной лунки после эксперимента, $C_D(t)$ – площадь пика, нормированная на сигнал внутреннего стандарта для донорной лунки после эксперимента, V_A – объем в акцепторной лунке, мл, V_D – объем в донорной лунке, мл [5].

2.3.3. Изучение биофармацевтической растворимости

Равновесная биофармацевтическая растворимость чаще всего определяется при встряхивании в термостатируемом шейкере изучаемого вещества в трех средах в течение 24 – 72 часов, но также может быть установлена другими методами, моделирующими поведение АФС в желудочно-кишечном тракте,

например с помощью тестера растворения при высоких оборотах, обеспечивающих быстрое насыщение раствора, как правило, в течение 2–4 часов [13, 49].

Биофармацевтическую растворимость производного ФТГХД определяли в трех средах, приготовленных в соответствии рекомендациями ВОЗ: в растворе с рН 1,2; в буферном растворе с рН 4,5 и в буферном растворе с рН 6,8 [128].

Равновесную биофармацевтическую растворимость определяли в двух повторностях с помощью тестера для проведения испытания «Растворение» DT 626/1000 НН (Erweka, Германия), аппарат II «Лопастная мешалка» при 200 об/мин. При проведении исследования 500 мл среды помещали в каждый сосуд, включали лопастные мешалки и термостатировали до установления температуры растворов в диапазоне $37 \pm 0,5$ °С. В каждый сосуд помещали по 20 мг производного ФТГХД и включали таймер. Через 15, 30, 60, 120 и 240 минут обирали пробы по 5 мл вручную и фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм в вials. Количество перешедшего в раствор вещества определяли спектрофотометрически на УФ-спектрофотометре Agilent 8453 (Agilent Technologies, США) при 293 нм и длине кюветы 10 мм. В качестве растворов сравнения использовали соответствующие среды растворения. Определение концентраций вещества в отобранных образцах проводили с использованием стандартных растворов с соответствующими значениями рН. Расчет концентраций испытуемых образцов (C , мг/мл) проводили по формуле:

$$C = \frac{C_0 \times A}{A_0},$$

где C_0 – концентрация стандартного раствора, мг/мл, A – оптическая плотность испытуемого раствора, A_0 – оптическая плотность стандартного раствора [6].

2.3.4. Изучение полиморфизма АФС

Рентгенодифракционное исследование интактного порошкообразного образца АФС было выполнено на дифрактометре Bruker D8 Discover (Bruker

Corporation, США), оборудованном никелевым фильтром ($\lambda[\text{CuK}\alpha] = 1,5418 \text{ \AA}$), системой щелей с переменной шириной, а также позиционно-чувствительным детектором LynxEye, в угловом диапазоне $4 - 50^\circ$ с шагом $0,02^\circ$ по углу 2θ . Расчеты проведены с помощью программных обеспечений DIFFRAC.SUITE EVA и TOPAS 4.2 (Bruker Corporation, США). Съемка осуществлялась в геометрии Брэгга-Брентано, в режиме отражения на бесфоновом кремниевом прободержателе.

Навеску образца массой около 20 мг помещали на прободержатель, прибавляли несколько капель гексана, суспендировали и с помощью шпателя полученную суспензию наносили тонким слоем по поверхности прободержателя, после чего образец был высушен на воздухе. Измерение дифракционной картины проводилось около 1 часа, полученные дифрактограммы использовались для расчетов без внесения дополнительных поправок.

Полиморфный скрининг был выполнен путем кристаллизации изучаемой АФС из различных растворителей и их смесей с последующим рентгеноструктурным анализом полученных монокристаллов. Растворы готовили путем растворения 15 мг АФС в 4 мл растворителя и нагревания до температуры кипения в течение 5–10 минут. Полученные растворы закрывали полупроницаемой пленкой и оставляли остывать на несколько дней без перемешивания при комнатной температуре. По мере испарения растворителя, наблюдался рост кристаллов. Образовавшиеся кристаллы отфильтровывали и сушили на воздухе.

Рентгеноструктурный анализ был выполнен на монокристалльном рентгеновском дифрактометре Xcalibur-3 (Agilent Technologies, США), ($\text{MoK}\alpha$ излучение, CCD-детектор, графитовый монохроматор, ω -сканирование, $2\theta_{\text{макс}} = 5^\circ$).

Монокристалльные структуры расшифрованы прямым методом по комплексу программ SHELXTL (Bruker Corporation, США). Положения атомов водорода выявлены из разностного синтеза электронной плотности и уточнены по модели «наездника» с $U_{\text{изо}} = nU_{\text{эКВ}}$ неводородного атома, связанного с данным

водородным ($n = 1,5$ для метильной группы и $n = 1,2$ для остальных атомов водорода). Структуры уточнены по F^2 полноматричным методом наименьших квадратов в анизотропном приближении для неводородных атомов до $wR_2 = 0,176$ по 3138 отражениям ($R_1 = 0,070$ по 2252 отражениям с $F > 4\sigma(F)$, $S = 1,076$) для ромбической модификации I и до $wR_2 = 0,169$ по 3101 отражениям ($R_1 = 0,061$ по 2466 отражениям с $F > 4\sigma(F)$, $S = 1,079$) для триклинной модификации II [14].

2.3.5. Оценка стабильности и совместимости АФС

Оценку продуктов деградации при изучении стабильности и совместимости АФС со ВВ проводили методом ВЭЖХ.

Подвижная фаза А: воду для хроматографии фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм (РЕТ) и дегазировали с помощью ультразвука.

Подвижная фаза В: в мерную колбу вместимостью 1000 мл помещали 900 мл ацетонитрила, добавляли 1,0 мл трифторуксусной кислоты, перемешивали, доводили до метки ацетонитрилом, перемешивали, фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм и дегазировали.

Испытуемый раствор. Около 0,025 г АФС помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 40 мл метанола, обрабатывали ультразвуком в течение 1–2 минут, доводили объём раствора метанолом до метки, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм. Концентрация полученного раствора: около 0,5 мг/мл.

Раствор примеси А. 1,3 мг исходного соединения для получения производного ФТГХД (примеси А) помещали в мерную колбу на 5 мл, растворяли в 1 мл метанола.

Раствор основной примеси производного ФТГХД. 0,7 мг основной примеси производного ФТГХД помещали в колбу на 5 мл и растворяют в 0,7 мл метанола.

Раствор для проверки пригодности хроматографической системы. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещали 0,8 мг основной примеси

производного ФТГХД и 1,3 мг примеси А, растворяли в 90 мл метанола, доводили до метки тем же растворителем и перемешивали. 0,5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 5 мл, доводили до метки испытуемым раствором.

Раствор для проверки чувствительности. 1,0 мл испытуемого раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора метанолом до метки и перемешивали. 1,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 20 мл, доводили объем раствора метанолом до метки и перемешивали. 1,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили объем раствора метанолом и перемешивали.

Хроматографические условия: колонка 150 × 4,6 мм, сорбент L1 (октадецилсиликагель), 3,5 мкм, XBridge (Waters, США); температура колонки – 30 °С; температура образцов – 15 °С; скорость потока – 1,0 мл/мин; объем ввода – 10 мкм; детектор УФ, 293 нм; режим элюирования – градиент:

Время, мин	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза В, %	Режим
0 – 3	90	10	Изократический
3 – 20	90 → 80	10 → 20	Линейный
20 – 23	80 → 70	20 → 30	Линейный
23 – 25	70 → 60	30 → 40	Линейный
25 – 35	60 → 90	40 → 10	Линейный

Время удерживания производного ФТГХД составляет около 15 минут.

Колонку уравнивали подвижной фазой до достижения стабильной базовой линии. Хроматографировали в градиентном режиме метанол, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор для проверки чувствительности и испытуемый раствор.

Хроматографическая система считалась пригодной, если выполнялись следующие требования:

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- наблюдаются пики с относительным временем удерживания около 0,96 и 1,04;

- разрешение (R_s) между пиком $C7070$ и пиком примеси с RRT 0,96, между пиком $C7070$ и пиком примеси с RRT 1,04 не менее 2,0;
- фактор асимметрии (T) пика $C7070$ не более 2,0.

На хроматограмме испытуемого раствора:

- эффективность хроматографической колонки (N), рассчитанная по пику производного ФТГХД, не менее 5000 теоретических тарелок;
- фактор асимметрии (T) пика производного ФТГХД не более 1,5;
- относительное стандартное отклонение (RSD) площадей и времен удерживания пика производного ФТГХД не более 5 % ($n \geq 6$).

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности:

- отношение сигнал/шум, рассчитанное по пику производного ФТГХД, не менее 10/1.

С целью выполнения требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы» допускалась корректировка условий хроматографирования в соответствии с ГФ РФ, ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография».

Содержание единичной примеси в АФС (X) в процентах рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S_i \times 100}{\sum S},$$

где S_i – площадь пика единичной примеси на хроматограмме испытуемого раствора, $\sum S$ – сумма площадей всех учитываемых пиков на хроматограмме испытуемого раствора.

При расчете содержания единичной примеси не учитывались пики, соответствующие по временам удерживания пикам на хроматограмме растворителя для проб и пики, площадь которых меньше, чем площадь основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности.

Суммированием результатов, полученных для единичных примесей, получали общее содержание примесей.

2.3.6. Изучение физико-химических свойств АФС

Внешний вид образцов АФС определяли визуально, цвет устанавливали в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Правила пользования фармакопейными статьями» на фильтровальной бумаге при рассеянном дневном свете при минимальном проявлении тени.

Определение формы и характера поверхности частиц проводили в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Оптическая микроскопия» с помощью инвертированного микроскопа Eclipse TS100 (Nikon Corporation, Япония), оснащенного камерой Tourcam.

Распределение частиц по размерам определяли в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Ситовый анализ» путем просеивания сквозь набор сит навески порошка и измерения массы, оставшейся на каждом сите. Каждому интервалу между размерами сит присваивали размер частиц. Размер частиц интервала оценивали путем усреднения размеров отверстий двух соприкасающихся сит. Количество материала, полученное в каждом интервале, деленное на общее количество порошка, складывали нарастающим итогом по всем размерам сит. Получали суммарный процент оставшейся массы как функции размера частиц. Строили график зависимости оставшейся массы от размера частиц, на котором определяли D_{10} , D_{50} и D_{90} .

Распределение частиц по размерам также было определено в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции» с помощью лазерного дифракционного анализатора размеров частиц Mastersizer 3000 (Malvern Panalytical, Великобритания). Разброс частиц по размерам (*Span*) рассчитывали по формуле:

$$Span = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}},$$

где D_{10} , D_{50} и D_{90} – эквивалентные диаметры сфер, описывающие частицы, меньше которых в образце находится 10, 50 и 90 % частиц по объему соответственно.

Растворимость АФС определяли в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Растворимость» путем прибавления к навеске растертого порошка отмеренного количества растворителя, соответствующего определенному условному термину, и непрерывно встряхивая в течение 10 минут.

Определение температуры плавления изучаемой АФС проводили в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Температура плавления», метод 1 (капиллярный метод), прибор 3, на приборе М-560 (Buchi Labortechnik AG, Швейцария). Определение проводили без предварительного подсушивания из растертой субстанции, скорость подъема температуры 2 °С/мин.

Определение потери в массе при высушивании проводили согласно ГФ РФ, ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1. Точную навеску субстанции помещали в предварительно высушенный бюкс. Испытание проводили, выдерживая образцы при 105 °С до постоянной массы в сушильном шкафу.

Определение содержания воды в образцах АФС проводили согласно методике ГФ РФ, ОФС.1.2.3.0002.15 «Определение воды», метод 1 (метод К. Фишера) с помощью титратора Titrator Compact V30S (Mettler Toledo, США), в качестве титранта выступал HYDRANAL-Composite 5k (Honeywell, кат. № 34805), в качестве растворителя использовали HYDRANAL-Solvent (Honeywell, кат. № 34800).

Гигроскопичность АФС оценивали согласно методике, представленной в монографии 5.11. «Characters section in monographs» («Описание (свойства)» в частных статьях) Европейской фармакопеи. Взвешивали закрытый стеклянный бюкс (m_1) с внешним диаметром 50 мм и высотой 15 мм. В бюкс помещали около 1 г порошка, закрывали притертой крышкой и снова взвешивали (m_2). Открытый бюкс с веществом помещали в климатическую камеру при 25 ± 1 °С и относительной влажности 80 ± 2 % на 24 часа. По истечении времени бюкс с веществом доставали из климатической камеры и снова взвешивали закрытым (m_3). Рассчитывали % увеличения массы (X) с помощью уравнения:

$$X = \frac{m_3 - m_2}{m_2 - m_1} \times 100,$$

где m_1 – масса закрытого бюкса без порошка, г; m_2 – масса закрытого бюкса с порошком до экспозиции, г, m_3 – масса закрытого бюкса с порошком после экспозиции, г.

2.3.7. Изучение технологических свойств АФС и модельных смесей

Насыпную плотность до и после уплотнения определяли с помощью тестера насыпной плотности ETD-1020 (Electrolab, Индия). Испытание проводили путем взвешивания 50,0 мл образца АФС, свободно насыпанного в цилиндр на 100,0 мл, и определения объема порошка после 1250 соскоков. Насыпную плотность без уплотнения (ρ_0) и после уплотнения (ρ_1) рассчитывали по формуле:

$$\rho_{0(1)} = \frac{m}{V_{0(1)}},$$

где ρ_0 – насыпная плотность до уплотнения, г/мл; ρ_1 – насыпная плотность после уплотнения, г/мл; m – масса навески образца, г; V_0 – объем свободно насыпанного порошка, мл; V_1 – объем порошка после уплотнения, мл.

Коэффициент прессуемости (CI) рассчитывали по формуле:

$$CI = \frac{V_0 - V_1}{V_0} \times 100,$$

где V_0 – объем свободно насыпанного порошка, мл; V_1 – объем порошка после уплотнения, мл.

Коэффициент Хауснера (HR) рассчитывали по формуле:

$$HR = \frac{\rho_1}{\rho_0},$$

где ρ_0 – насыпная плотность до уплотнения, г/мл; ρ_1 – насыпная плотность после уплотнения, г/мл.

Сыпучесть и угол естественного откоса устанавливали в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Степень сыпучести порошков» с помощью тестера сыпучести Erweka GTL (Erweka, Германия) без перемешивания путем измерения времени свободного истечения 100,0 г образца субстанции через воронки 10, 15, 25 мм и

угла при основании образовавшейся конусообразной насыпи порошка с помощью угломера соответственно.

Прессуемость (прочность на раздавливание) определяли путем прессования образцов на эксцентриковом таблетпрессе Fast tab 3000 (Farmalabor Tech, Италия) и определения прочности на раздавливание полученных таблеток с помощью тестера Tbh 125 td (Erweka, Германия), который также использовался для определения геометрических параметров таблеток.

Внутреннюю пористость (I) рассчитывали с помощью уравнения:

$$I = \frac{\rho_1 - \rho_0}{\rho_1 \times \rho_0},$$

где ρ_0 – насыпная плотность до уплотнения, г/мл; ρ_1 – насыпная плотность после уплотнения, г/мл.

Распадаемость определяли в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

Время смачивания и степень водопоглощения определяли путем помещения предварительно взвешенных таблеток на круглую фильтровальную бумагу диаметром 6 мм, смоченную водой очищенной в количестве 6 мл и расположенную в чашке Петри равного ей диаметра. Время смачивания определяли как время, необходимое для смачивания всей поверхности таблетки. После полного смачивания таблетки повторно взвешивали. Степень водопоглощения рассчитывали по формуле:

$$WAR = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100,$$

где m_1 – масса таблетки до абсорбции, мг, г; m_2 – масса таблетки после абсорбции.

Среднюю массу и однородность массы определяли в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

Истираемость таблеток определяли в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Истираемость таблеток», прибор 2.

ГЛАВА 3. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ АФС

3.1. Прогнозирование свойств АФС *in silico*

Прогнозирование свойств потенциальных кандидатов биологически активных веществ является неотъемлемой частью начальных этапов создания лекарственных средств, поскольку оно позволяет ускорить процесс фармацевтической разработки и уменьшить затраты на него. К учитываемым характеристикам потенциального ЛС относятся такие параметры, как абсорбция, распределение в организме, метаболизм, экскреция и токсичность (т.н. ADMET характеристики), сродство к белкам-переносчикам, способность ингибировать ферменты и прочие обусловленные взаимодействием ЛС с организмом, а также физико-химические свойства вещества-кандидата: температура плавления, растворимость, константа кислотности и другие.

Для предсказания свойств изучаемого вещества использовались доступные интернет-ресурсы – admetSAR [22] и SwissADME [43]. Результаты расчета свойств с помощью ресурса admetSAR представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Свойства АФС, предсказанные admetSAR

Свойство	Значение*	Вероятность
Кишечная абсорбция	+	0,98
Проницаемость через ГЭБ**	+	0,98
Ингибитор Р-гликопротеина	-	0,64
Субстрат Р-гликопротеина	-	0,78
Ингибитор CYP1A2	+	0,68
Ингибитор CYP2C19	+	0,83
Ингибитор CYP2C9	+	0,78
Ингибитор CYP2D6	-	0,88
Ингибитор CYP3A4	+	0,71
Растворимость в воде, LogS	- 4,16	
AlogP	4,11	

* «+» значит, что данное свойство характерно для изучаемого вещества, «-» – не характерно для данного вещества, **Гематоэнцефалический барьер

Данные, полученные с помощью ресурса SwissADME представлены на рисунке 9.

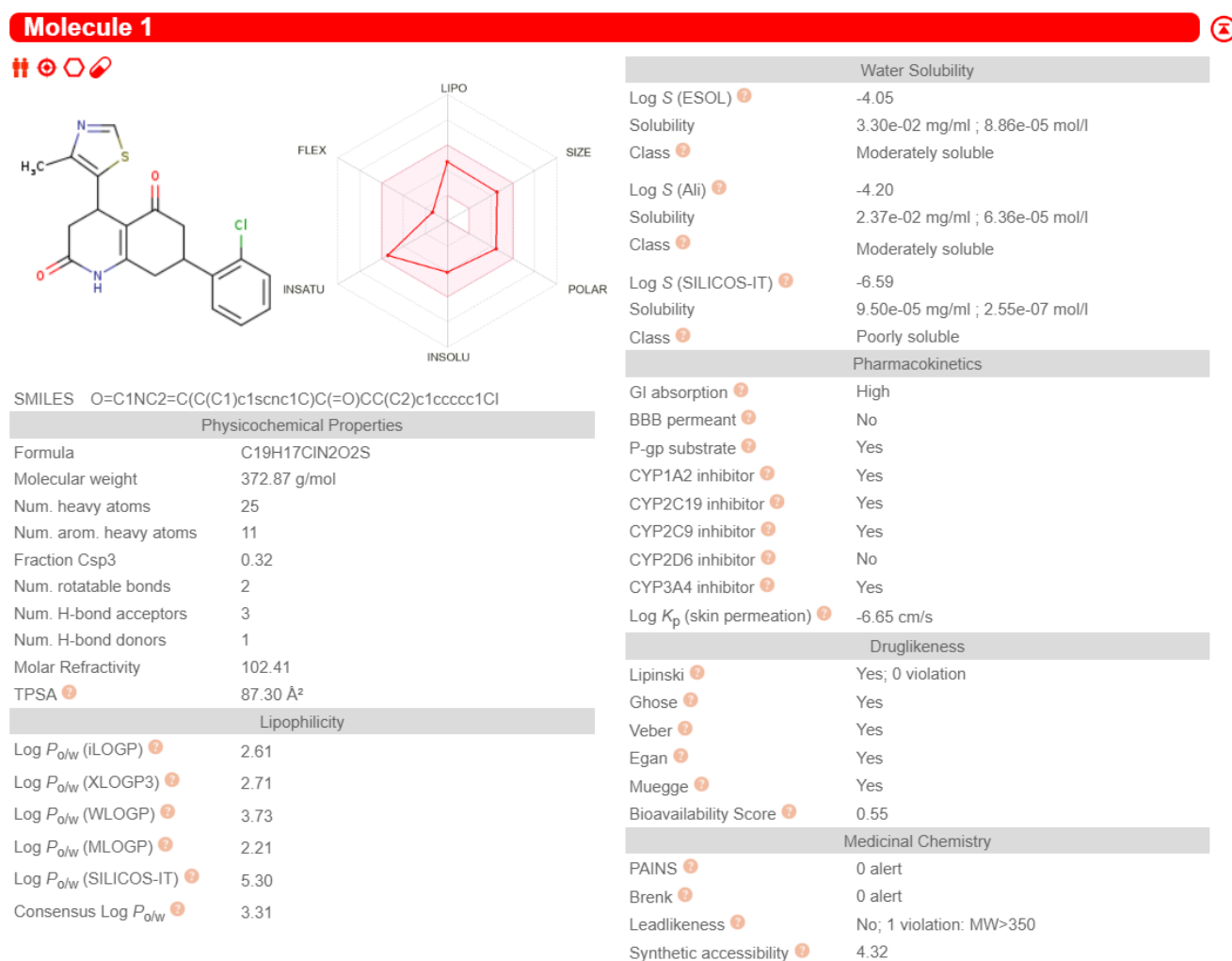


Рисунок 9 – Результаты предсказания свойств АФС с помощью ресурса SwissADME

Согласно представленным результатам изучаемое вещество обладает оптимальной поляризуемостью, которая характеризуется молекулярной (молярной) рефракцией – Molar Refractivity (оптимальное значение составляет от 40 до 130) и полярностью, описываемая площадью топологической полярной поверхности – TPSA, то есть суммой поверхностей всех полярных атомов в молекуле (оптимальное значение составляет не более 140 Å²), при этом значение менее 90 Å² говорит о возможности изучаемой молекулы проникать сквозь гематоэнцефалический барьер, что имеет большое значение для потенциального

анальгетика. Полученный вывод согласуется с рассчитанной с помощью ресурса admetSAR вероятностью ГЭБ-проницаемости, но противоречит выводу, сделанному SwissADME об отсутствии возможности прохождения изучаемого вещества через ГЭБ (BBB permeant). Результаты, полученные с помощью двух ресурсов, не согласуются также в отношении аффинности изучаемого вещества к Р-гликопротеину (P-gp), но дают одинаковые результаты при оценке цитохром-Р450-ингибирующей активности, что имеет значение для дальнейшей оценки фармакокинетики и эффектов лекарственного взаимодействия. О высокой проникающей способности изучаемого вещества также говорят рассчитанные коэффициенты распределения октанол-вода (LogP), среднее значение которых составляет 3,31 для ресурса SwissADME и 4,11 для admetSAR (оптимальное значение находится в интервале от минус 0,7 до 5,0). Высокая гидрофобность вещества также обуславливает его низкую растворимость в воде (среднее рассчитанное значение LogS для SwissADME составляет минус 4,95, для admetSAR – минус 4,16, что соответствует термину «практически нерастворим» согласно ГФ РФ, ОФС «Растворимость»).

Таким образом, изучаемое вещество соответствует всем критериям, предъявляемым к фармакологически активным веществам (Правило Липинского, фильтр Ghose, Veber и др.), однако расхождения в предсказанных свойствах, в частности сродство к Р-гликопротеину, требуют экспериментального уточнения.

3.2. Изучение кишечной проницаемости АФС на модели клеток Caco-2

Для подтверждения возможности и оценки степени гастроинтестинальной абсорбции, а также установления аффинности к Р-гликопротеиновому переносчику были проведены исследования кишечной проницаемости изучаемого вещества *in vitro* на модели клеток Caco-2. Исследование проницаемости проводилось со стороны апикальной мембраны к базолатеральной (А–В) и в обратном направлении (В–А). В качестве контрольных соединений были использованы: ранитидин – вещество, характеризующееся низкой

проницаемостью (III класс БКС), пропранолол, для которого характерна высокая проницаемость (I класс БКС) и родамин 123, выступавший в качестве субстрат Р-гликопротеинового транспортера, в качестве ингибитора которого был использован циклоспорин А. Проницаемость ФТГХД была изучена на шести концентрациях: 0,001; 0,01; 0,1; 0,4; 4 и 40 мкг/мл, при этом не удалось достигнуть концентрации вещества в 4 мкг/мл и выше (соответствующие растворы характеризуются низким процентом извлечения и визуальной опалесценцией), в связи с чем, данные, полученные при указанных концентрациях не учитывались для дальнейшего анализа. Результаты определения проницаемости ФТГХД и контрольных веществ представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты изучения проницаемости и асимметрии транспорта веществ на модели клеток Сасо-2

Вещество, его концентрация, мкг/мл	P_{app} А-В, $\times 10^{-6}$ см/с	P_{app} В-А, $\times 10^{-6}$ см/с	Коэффициент эффлюкса	Извлечение АВ/ВА, %
ФТГХД, 40	13,5	13,8	1,02	28,0/29,8
ФТГХД, 4	5,09	3,99	0,78	19,0/22,6
ФТГХД, 0,4	43,1	26,2	0,61	99,4/109,0
Ранитидин	0,87	-	-	112
Пропранолол	22,7	-	-	69,2
Родамин 123	2,6	4,59	1,77	64,6/72,4
Родамин 123 + Циклоспорин А	0,6	0,41	0,68	74,3/74,5
ФТГХД, 0,1	56,9	43,8	0,77	125,0/114,0
ФТГХД, 0,01	28,2	55,6	1,97	79,0/92,8
ФТГХД, 0,001	27,4	50,5	1,84	68,7/67,4
Ранитидин	1,94	-	-	105
Пропранолол	23,8	-	-	63,5
Родамин 123	2,6	4,59	1,77	64,6/72,4
Родамин 123 + Циклоспорин А	0,29	0,37	1,28	79,4/85,5

* «->» – исследование не проводилось

Полученные *in vitro* результаты кишечной абсорбции согласуются с выводами, сделанными с помощью программ *in silico*: ФТГХД обладает высокой

кишечной абсорбцией ($\bar{P}_{app} = 38,9 \times 10^{-6}$ см/с), превышающей таковую у стандарта с известной высокой биодоступностью – пропранолола ($\bar{P}_{app} = 23,3 \times 10^{-6}$ см/с).

Полученные средние значения коэффициентов кажущейся проницаемости ФТГХД и контрольных веществ были сопоставлены с соответствующими рассчитанными величинами коэффициентов распределения октанол/вода (таблица 9).

Таблица 9 – Корреляция между \bar{P}_{app} и LogP

АФС	$\bar{P}_{app} \times 10^{-6}$ см/с	SwissADME	AlogP admetSAR	ClogP ChemDraw	milogP	AlogP ALOGPS 2.1
ФТГХД	38,9	3,31	4,11	2,17	2,90	1,79
Ранитидин	1,40	0,64	1,46	0,67	0,33	0,79
Пропранолол	23,3	2,84	2,58	2,75	2,97	3,03
R^2		0,93	0,97	0,59	0,81	0,28

Результаты сравнения коэффициентов распределения октанол-вода ФТГХД и стандартных веществ согласуются с полученными *in vitro* данными, при этом наилучшая корреляция наблюдается для ресурсов admetSAR, SwissADME и Molinspiration. Разброс полученных значений logP (для ФТГХД $2,86 \pm 1,14$) могут быть объяснены разными подходами к расчету и базами данных экспериментальных значений logP, используемыми данными ресурсами для установления зависимости «структура – свойство».

Высокая проницаемость характерна для ФТГХД как в прямом, так и в обратном направлении, что является индикатором пассивной диффузии вещества сквозь клеточные мембраны. Родамин 123, как типичный субстрат Pgp-транспортера, характеризуется высоким коэффициентом эффлюкса (КЭ равен 2,10), который в присутствии блокатора вышеуказанного переносчика – циклоспорина А – стремится к единице (КЭ равен 0,98), при этом коэффициент эффлюкса ФТГХД составляет менее 2 и равен 1,30, что говорит об отсутствии средства изучаемого соединения к наиболее распространенному переносчику лекарственных средств – Р-гликопротеину, подтверждая предсказание, сделанное

admetSAR. Зависимости коэффициентов кажущейся проницаемости от концентрации ФТГХД также не отмечено (R^2 составляет 0,18).

Таким образом, согласно руководству FDA [53] ФТГХД обладает высокой кишечной проницаемостью, а также всеми признаками, характерными для веществ, способных посредством пассивной диффузии проникать через клеточные мембраны (проницаемость АФС не зависит от ее концентрации и направления, отсутствует сродство ФТГХД к эффлюкс транспортеру Pgp) [5].

3.3. Определение биофармацевтической растворимости и класса БКС АФС

Высокая кишечная абсорбция не может гарантировать высокую биодоступность, поскольку степень проникновения лекарственного средства в кровь может лимитироваться его растворимостью в физиологических средах, то есть биофармацевтической растворимостью. Данное свойство, наряду с кишечной проницаемостью, относится к биофармацевтическим характеристикам АФС, определяющим класс БКС. Отнесение вещества к тому или иному классу БКС позволяет решить многие задачи, возникающие при фармацевтической разработке как оригинальных, так и воспроизведенным лекарственных препаратов, в частности, при разработке аналитических методик контроля качества АФС, при выборе лекарственной формы, подхода к ее получению и применению тех или иных вспомогательных веществ, влияющих на растворимость и/или кишечную проницаемость биологически активного вещества.

Установление биофармацевтической растворимости было проведено согласно методике, описанной в разделе 2.3.3., профиль растворения ФТГХД в средах, рекомендуемых руководством FDA [53], представлен на рисунке 10.

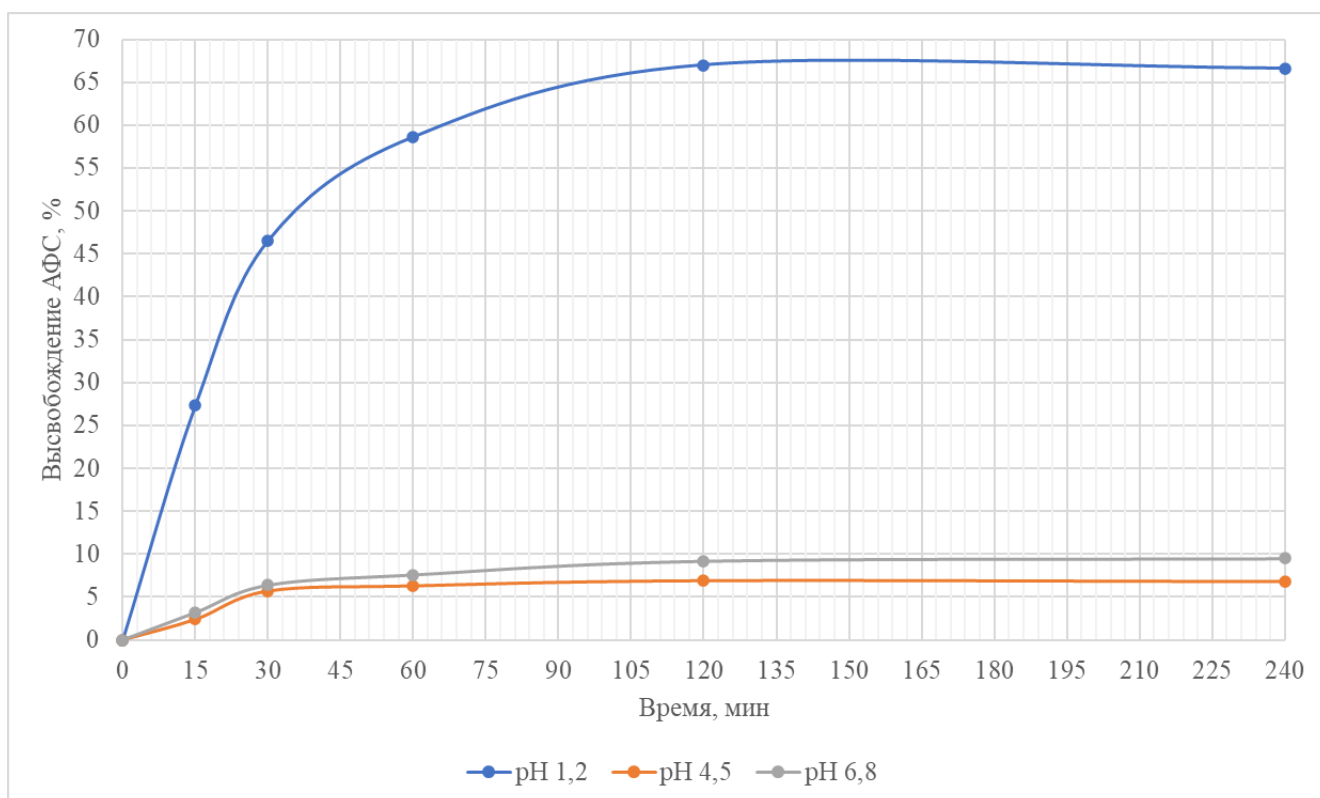


Рисунок 10 – Профиль растворения ФТГХД в трех средах

Согласно представленному профилю растворения изучаемого вещества насыщение растворов было достигнуто в течение 120 минут проведения теста растворения, о чем свидетельствует отсутствие статистически значимых различий в концентрациях растворов через 2 и 4 часа исследования ($RSD_{\text{pH } 1,2} = 2,74 \%$, $RSD_{\text{pH } 4,5} = 2,75 \%$, $RSD_{\text{pH } 6,8} = 3,11 \%$). ФТГХД проявляет выраженную pH-зависимую растворимость, обусловленную амфотерными свойствами изучаемого вещества, в структуре которого присутствует основной центр – атом азота пиридинового типа в тиазольном кольце и NH-кислотный центр лактамной группы (рисунок 3), за счет чего изучаемое соединение, образуя соли, лучше растворяется в хлористоводородной кислоте и в более щелочном буферном растворе с pH 6,8. Минимальная растворимость ФТГХД наблюдается при pH 4,5, что по-видимому, обусловлено приближением данного значения кислотности среды к изоэлектрической точке изучаемого вещества. Таким образом, равновесная биофармацевтическая растворимость при pH 1,2 составила $26,64 \pm 1,36$ мкг/мл, при pH 4,5 – $2,72 \pm 0,15$ мкг/мл, при pH 6,8 – $3,8 \pm 0,21$ мкг/мл [6].

Для классификации ФТГХД по его биофармацевтической растворимости были рассчитаны отношения значений высшей разовой терапевтической дозы (в рамках данного исследования – рассчитанной дозы для человека, равной 10 мг [8]) к его биофармацевтической растворимости, которые для высоко растворимых веществ принимают значения ниже 250 мл. Результаты представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Установление степени биофармацевтической растворимости

Среда растворения	Биофармацевтическая растворимость, мкг/мл	Отношение дозы к растворимости, мл	Классификация растворимости
Раствор с pH 1,2	26,64 ± 1,36	375,38	низкая
Буферный раствор с pH 4,5	2,72 ± 0,15	3676,47	низкая
Буферный раствор с pH 6,8	3,80 ± 0,21	2631,58	низкая

Таким образом, согласно руководству FDA [53] ФТГХД обладает низкой растворимостью во всех изученных средах и с учетом его высокой кишечной проницаемости может быть отнесен ко II классу БКС, в связи с чем фармацевтическая разработка лекарственной формы ФТГХД должна быть направлена на увеличение растворимости изучаемой АФС, а наиболее подходящими лекарственными формами, обеспечивающими наиболее полное высвобождение субстанции в желудке, в кислой среде которого лучше растворимо изучаемое вещество, являются твердые желатиновые капсулы, в которых наполнитель находится в неспрессованном виде, твердые формы немедленного высвобождения: например, ородиспергируемые таблетки, шипучие и диспергируемые таблетки, гранулы и пеллеты, которые обеспечивают поступление в желудок субстанции в виде мелкодисперсной суспензии или раствора, а также жидкие лекарственные формы, в которых ФТГХД может быть переведен в легко усваиваемые комплексы или мицеллярные формы. При этом, критическим показателем качества АФС становится размер частиц, для которого

должен быть определен оптимальный диапазон, а в разработке состава ЛФ существенное значение приобретают растворимость, солюбилизующая, комплексообразующая и дезинтегрирующая способности ВВ.

3.4. Изучение полиморфизма АФС

Поскольку ФТГХД относится ко II классу БКС, эффективность и безопасность лекарственного препарата на его основе будет зависеть от ряда факторов, лимитирующих его растворимость, в число которых входит полиморфная модификация изучаемого вещества [129]. Полиморфы могут проявлять различные физико-химические свойства, такие как температура плавления, растворимость, скорость растворения, угол смачивания и другие характеристики, способные оказывать влияние на качество и отношение польза/риск при применении ЛП [37]. Образование различных полиморфов одного и того же лекарственного вещества обычно происходит при изменении условий кристаллизации, при введении в жидкие или мягкие лекарственные формы различных вспомогательных веществ, при сушке и прочих процессах, при которых изменяются условия среды, а также в процессе хранения АФС или ЛП ее содержащего, то есть на протяжении всего жизненного цикла лекарственного средства, начиная от его получения и/или очистки и заканчивая поведением в ЖКТ пациента [129, 114]. Таким образом, на раннем этапе разработки ЛС должен быть установлен факт наличия или отсутствия полиморфизма у вещества-кандидата и оценено его влияние на значимые КПК проектируемого ЛП, основным из которых является степень высвобождения.

Идентификация кристаллических фаз в нативном образце, полученном по технологии, описанной в главе 2, была проведена с помощью порошковой рентгеновской дифракции. Полученная дифрактограмма представлена на рисунке 11.

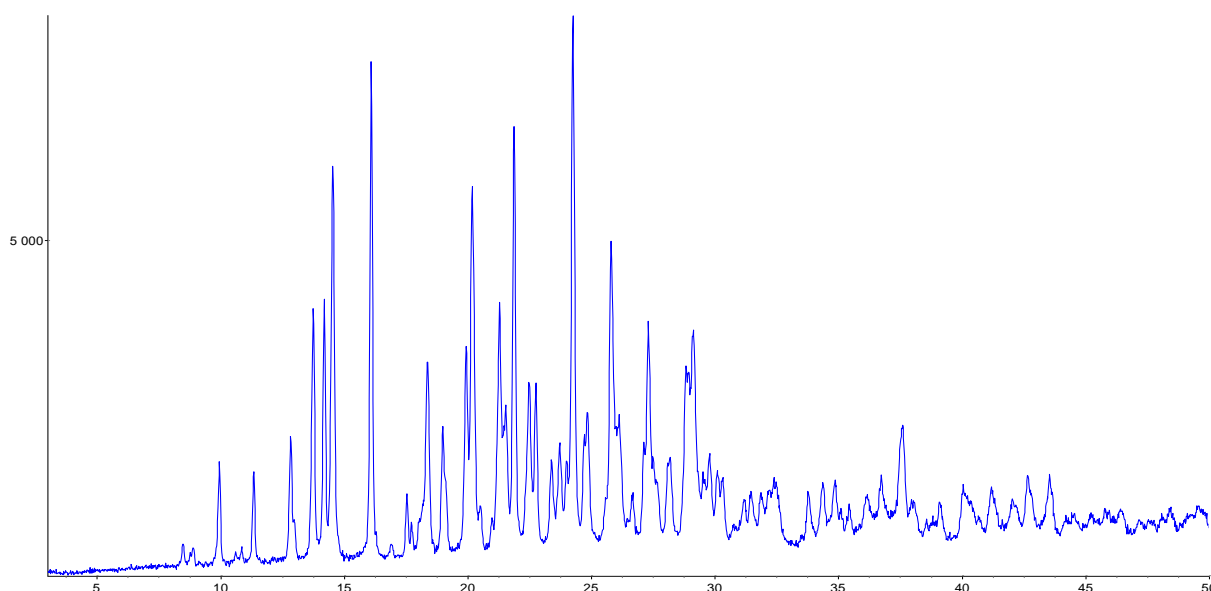


Рисунок 11 – Дифрактограмма нативного образца ФТГХД

Из полученной дифрактограммы видно, что пики сильно уширены, а индивидуальных неперекрывающихся отражений недостаточно для индентификации конкретных полиморфов. Вероятно, это может быть вызвано высокой скоростью кристаллизации полученного образца. Далее был проведен полиморфный скрининг, описанный в разделе 2.3.4., с целью выделения кристаллов отдельных полиморфов из различных растворителей и их смесей и идентифицированы полиморфы с помощью монокристаллического рентгеноструктурного анализа.

Кристаллы, пригодные для анализа, удалось получить из следующих растворителей: метанол, этанол, 2-пропанол, ацетон, смесь ацетонитрила и ацетона (1:1), смесь ацетонитрила и тетрагидрофурана (1:1). При проведении монокристаллического рентгеноструктурного анализа, было установлено, что при кристаллизации ФТГХД из этанола образуется индивидуальная кристаллическая модификация ромбической формы – форма I (рисунок 12). При перекристаллизации АФС из метанола, 2-пропанола, ацетона, смеси ацетонитрила и ацетона, ацетонитрила и тетрагидрофурана – получена еще одна индивидуальная кристаллическая форма триклинной модификации – форма II (рисунок 13) [14].

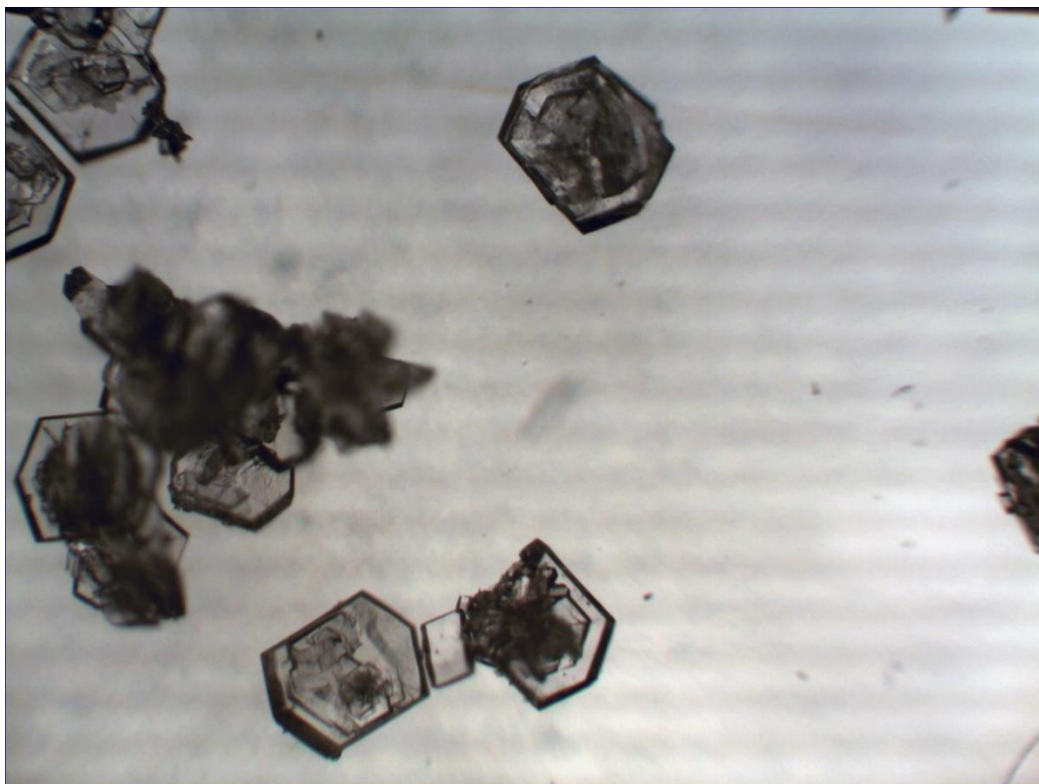


Рисунок 12 – Кристаллы ромбической модификации (форма I)

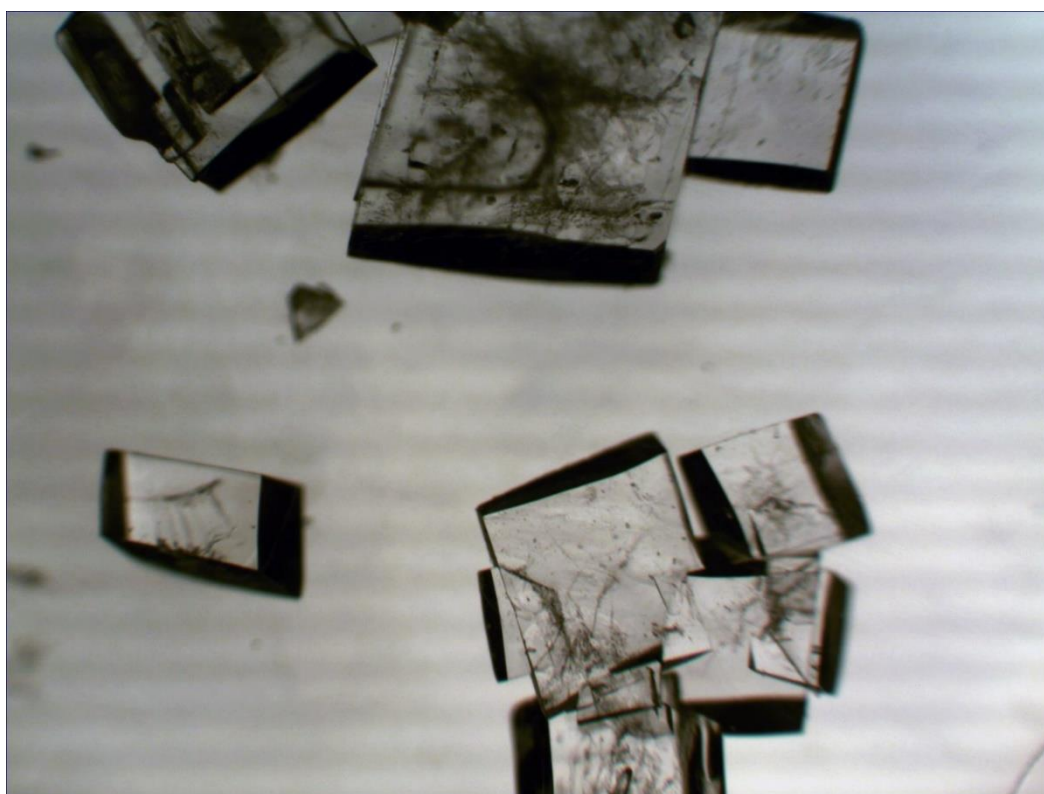


Рисунок 13 – Кристаллы триклинной модификации (форма II)

3.5. Изучение влияния полиморфизма и размера частиц на растворение АФС

Полученные образцы полиморфных модификаций I и II были измельчены в ступке и просеяны сквозь сита 100 и 50 мкм с получением четырех фракций: частицы полиморфа I с размером от 100 до 50 мкм и размером менее 50 мкм, и частицы полиморфа II с размером от 100 до 50 мкм, и размером менее 50 мкм. Исследование растворения четырех образцов было проведено по методике, использовавшейся для определения биофармацевтической растворимости АФС в среде с рН 1,2, поскольку в ней наблюдалось наибольшее высвобождение вещества. Полученные профили растворения представлены на рисунке 14.

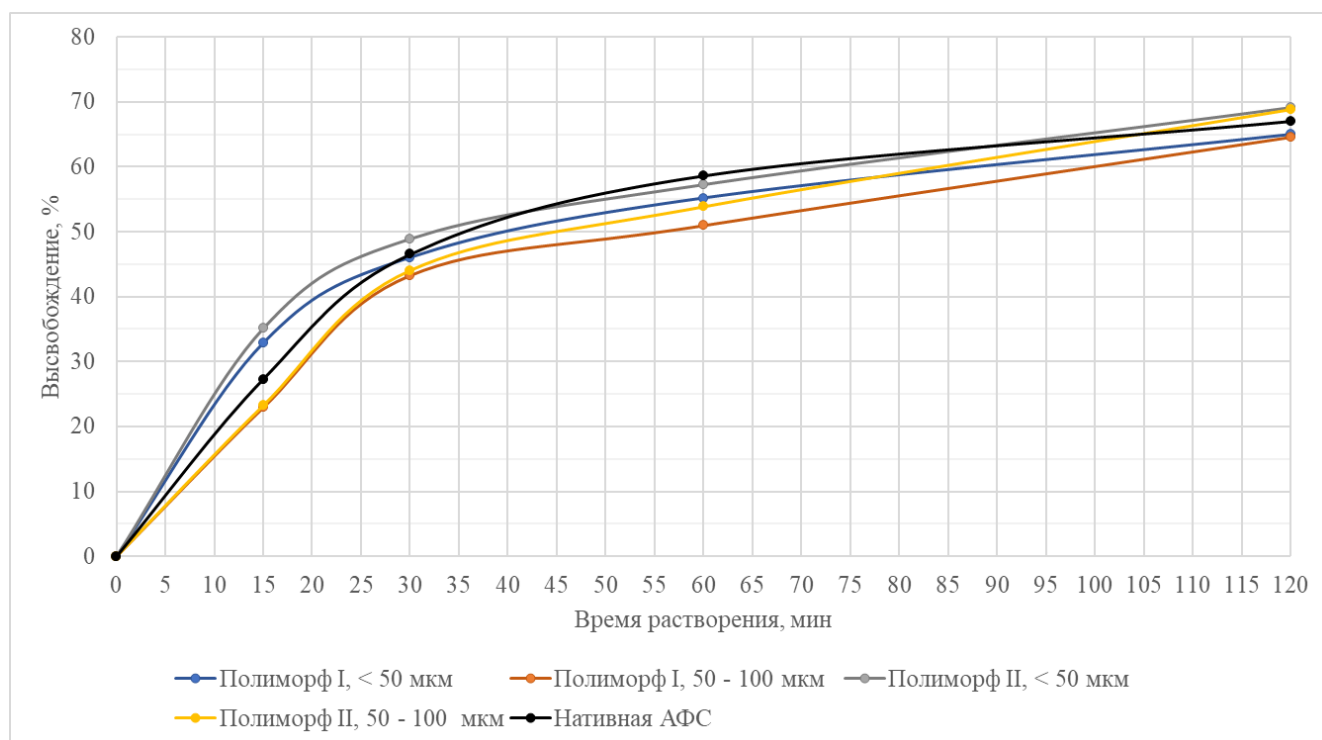


Рисунок 14 – Профили растворения частиц двух фракций полиморфов АФС

Визуально профили растворения двух полиморфов сопоставимы, при этом существуют различия в кинетике растворения частиц двух фракций на протяжении более 60 минут, которые нивелируются по достижении точки в 120 минут, в которой растворимости двух фракций частиц приблизительно равны таковой у нативной АФС.

Для более точной оценки были рассчитаны коэффициенты сходства и различия (таблица 11) и отношения концентраций полиморфов с одинаковым размером частиц в каждой точке (таблица 12).

Таблица 11 – Факторы различия и сходства для двух фракций частиц полиморфов

Полиморф, размер частиц, мкм	Фактор различия f_1	Фактор сходимости f_2
Полиморф I, <50 мкм	6	73
Полиморф I, >50 мкм	10	64
Полиморф II, <50 мкм	7	68
Полиморф II, >50 мкм	6	73

Таблица 12 – Отношения концентраций полиморфа II к полиморфу I в каждой точке

Время, мин	Отношения концентраций полиморфов для частиц менее 50 мкм	Отношения концентраций полиморфов для частиц от 50 до 100 мкм
15	1,0681	1,0139
30	1,0622	1,0174
60	1,0377	1,0562
120	1,064	1,0653
Среднее	$1,0580 \pm 0,0219$	$1,03820 \pm 0,0419$

На основе рассчитанных факторов можно сделать вывод, что профили растворения разных полиморфов с разным размером частиц схожи ($f_1 \leq 15$, $f_2 \geq 50$). Существует превосходство растворимости полиморфа II над полиморфом I для обеих фракций частиц, однако оно пренебрежимо мало, поэтому для дальнейших исследований было решено использовать АФС, полученную по технологии, описанной в главе 2, без дополнительной перекристаллизации.

Для уточнения влияния размера частиц на растворимость ФТГХД в растворе 0,1 М хлористоводородной кислоты для каждого полиморфа были рассчитаны отношения концентраций АФС двух фракций в каждой точке (рисунок 15.)

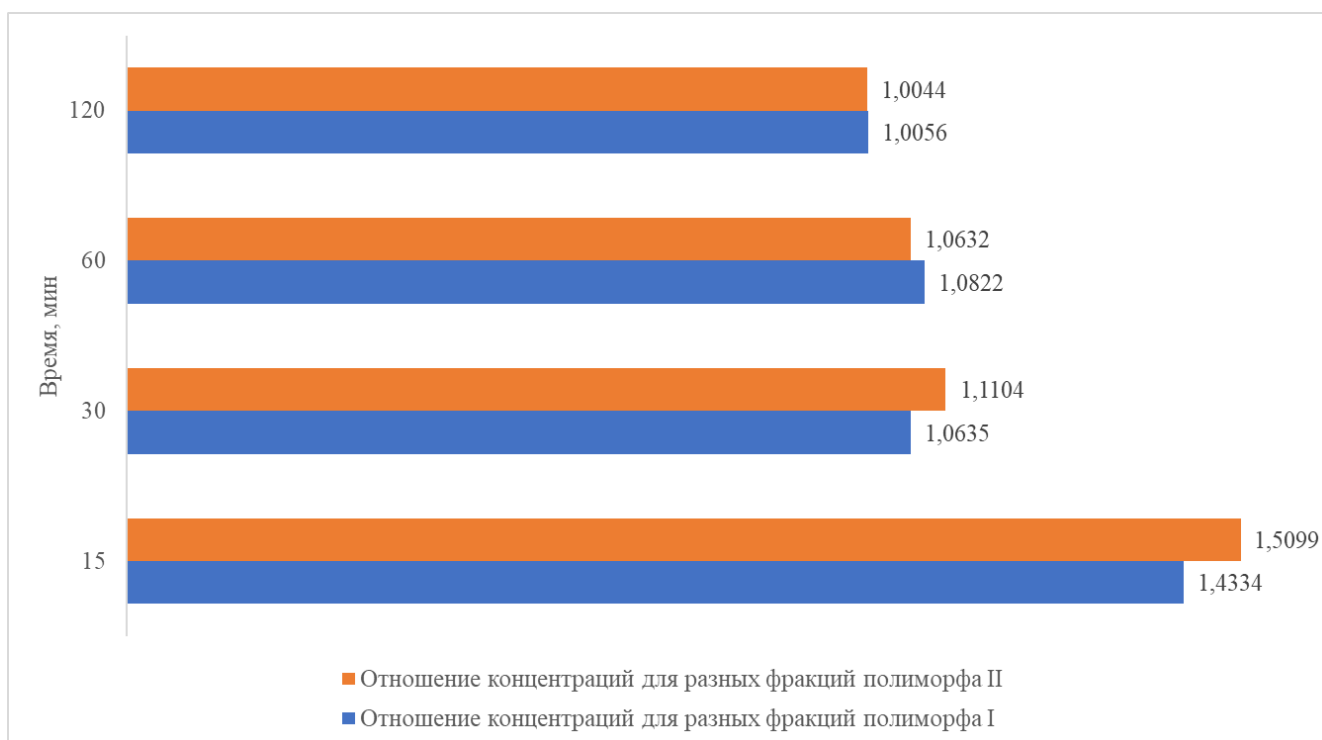


Рисунок 15 – Влияние размера частиц на растворимость АФС

Согласно полученным результатам размер частиц АФС оказывает существенное влияние на скорость растворения в течение первых 30 минут: для более мелкой фракции за 15 минут высвобождается в среднем в 1,47 раз больше действующего вещества, при этом скорость растворения по истечении 30 минут выравнивается для двух фракций, что может быть объяснено переходом всех наиболее мелких частиц в растворимое состояние. Поскольку для предполагаемого применения ФТГХД в качестве анальгетического средства требуется максимально быстрое начало действия, считается целесообразным для дальнейших исследований использовать АФС, просеянную сквозь сито 50 мкм.

3.6. Оценка стабильности АФС

Для обоснования возможных методов переработки АФС с целью получения ЛФ на ее основе и установления предполагаемых условий хранения, была изучена стабильность образцов ФТГХД, заложенных на хранение в климатической камере KBF 240 (BINDER GmbH, Германия) в открытых и укуренных резиновыми

пробками стеклянных флаконах при 25 ± 2 °С и относительной влажности 60 ± 5 % и при 45 ± 2 °С и относительной влажности 75 ± 5 % в течение 3 месяцев. По истечении указанного периода образцы АФС были проанализированы хроматографическим методом, описанным в разделе 2.3.5. Результаты представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Деградация АФС под действием температуры, и температуры и влажности

Условия хранения	Содержание единичной примеси, %
25 ± 2 °С, 60 ± 5 % закрытый	0,05
25 ± 2 °С, 60 ± 5 %, открытый	0,09
45 ± 2 °С, 75 ± 5 %, закрытый	0,27
45 ± 2 °С, 75 ± 5 %, открытый	0,55

Полученные результаты изучения стабильности АФС свидетельствуют о росте содержания примесей при увеличении температуры и влажности среды, особенно при сочетании данных условий. Таким образом, следует избегать воздействия комбинации указанных факторов на ФТГХД в процессе его обработки и применения по возможности более «щадящих» методов получения ЛФ.

Фотостабильность АФС была оценена при хранении ФТГХД в чашке Петри (АФС была нанесена тонким слоем, так чтобы толщина слоя не превышала 3 мм) при температуре 25 ± 2 °С и относительной влажности 60 ± 5 % в климатической камере KBF 240 (BINDER GmbH, Германия) с системой освещения с излучением в диапазоне, эквивалентном эмиссионному стандарту ID65 (люминесцентные лампы с холодным белым светом: цветовая температура 865, 6500 К и УФ-излучением в спектральном диапазоне 320–400 нм). Освещенность составляла 7200 люкс, энергетическая мощность в ближней УФ-области – 1 Вт/м², время эксперимента – 14 суток, световая экспозиция – 2,42 млн. люкс × час, энергетическая экспозиция – 336 Вт × час/м². Таким образом в соответствии с руководством ICH Q1B «Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products» (Испытание на стабильность: испытание новых

лекарственных веществ и лекарственных препаратов на фотостабильность) в процессе облучения были достигнуты необходимые условия: освещение не менее 1,2 млн. люкс/час и суммарная энергия ультрафиолета ближнего спектра не менее $200 \text{ Вт} \times \text{ч}/\text{м}^2$. Темновой контроль обеспечивали закладкой образцов АФС в чашку Петри, обернутую светонепроницаемым материалом (алюминиевой фольгой). Результаты изучения фотостабильности АФС представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Оценка фотостабильности АФС

Образец	До воздействия излучения	Темновой контроль	После воздействия излучения
Содержание единичной примеси, %	0,035	0,033	0,067

Полученные результаты изучения фотостабильности АФС свидетельствуют о значимом росте содержания примесей при воздействии излучения в соответствии с ICH Q1B, в связи с чем ФТГХД может быть отнесен к фотолabileм соединениям, для которых условия хранения дополняются указанием «в защищенном от света месте».

3.7. Изучение физико-химических свойств АФС

В соответствии с руководством ICH Q8 «Фармацевтическая разработка» для создания ЛП надлежащего качества необходимо глубокое понимание как свойств самого продукта, так и его компонентов, в связи с чем важным начальным этапом разработки ЛФ, входящим в комплекс предварительных исследований компонентов ЛП (preformulation studies), является изучение физико-химических свойств новой АФС. Физико-химические свойства вещества могут оказывать влияние на КПК ЛП, так растворимость АФС может влиять на выбор самой ЛФ, метода ее получения, ее компонентов, например, растворителя в жидких и основы

в мягких ЛФ, размер и форма частиц – на способ получения твердых ЛФ, гигроскопичность – на стабильность ЛФ и т.д. [48].

Основные физико-химические свойства АФС были изучены на образцах трех серий. По внешнему виду ФТГХД представляет собой белый или почти белый мелкокристаллический порошок. Микрофотографии нативной АФС представлены на рисунке 16.

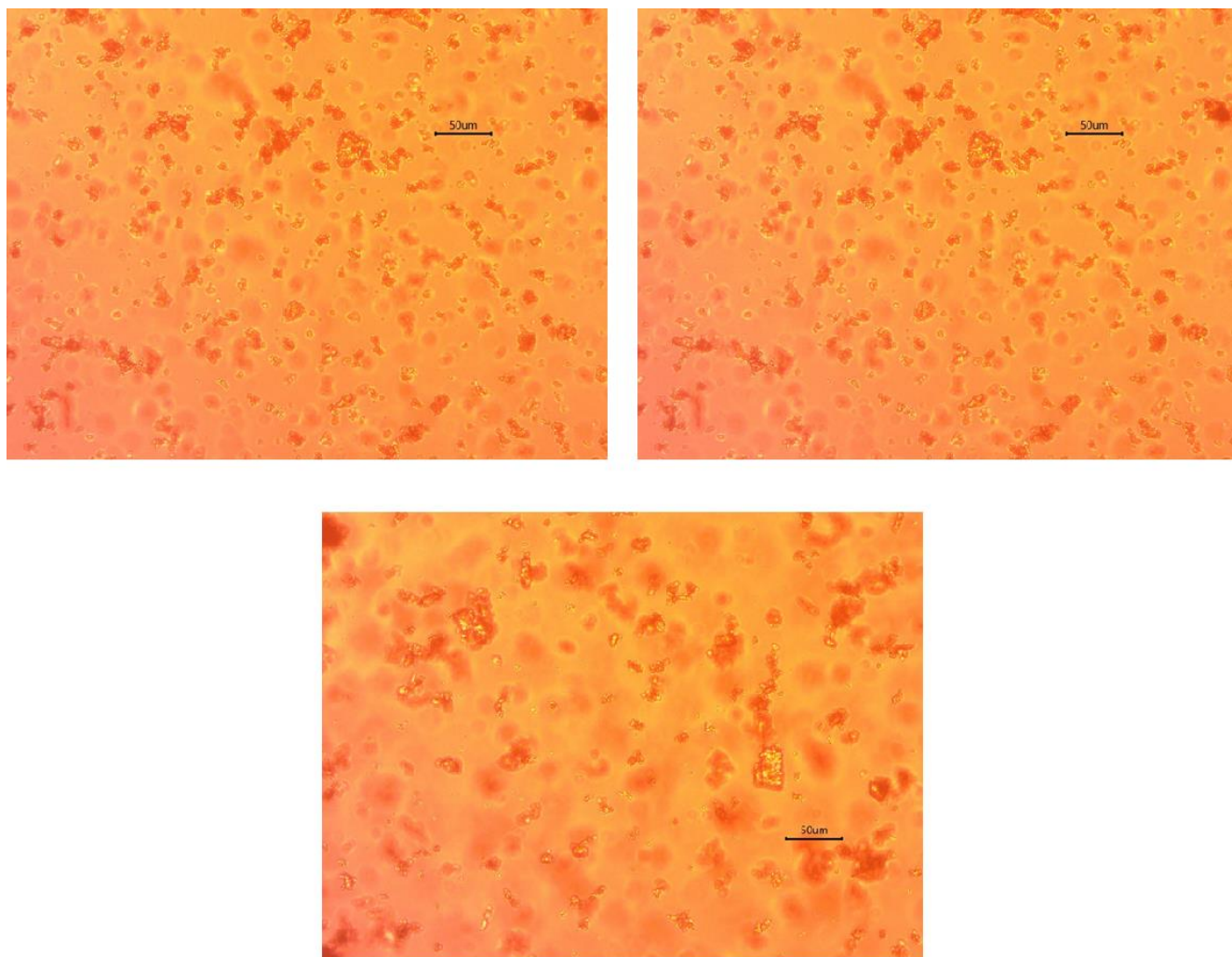


Рисунок 16 – Микрофотографии порошка АФС при увеличении 40х

Согласно ГФ РФ, ОФС «Оптическая микроскопия» частицы нативной АФС имеют сферическую форму, образуют агрегаты, поверхность которых шероховатая, изрытая, что обуславливает высокую площадь поверхности и электризуемость порошка.

Распределение частиц по размерам определяли путем просеивания сквозь набор сит навески порошка и измерения массы, оставшейся на каждом сите. Результаты представлены на рисунке 17.

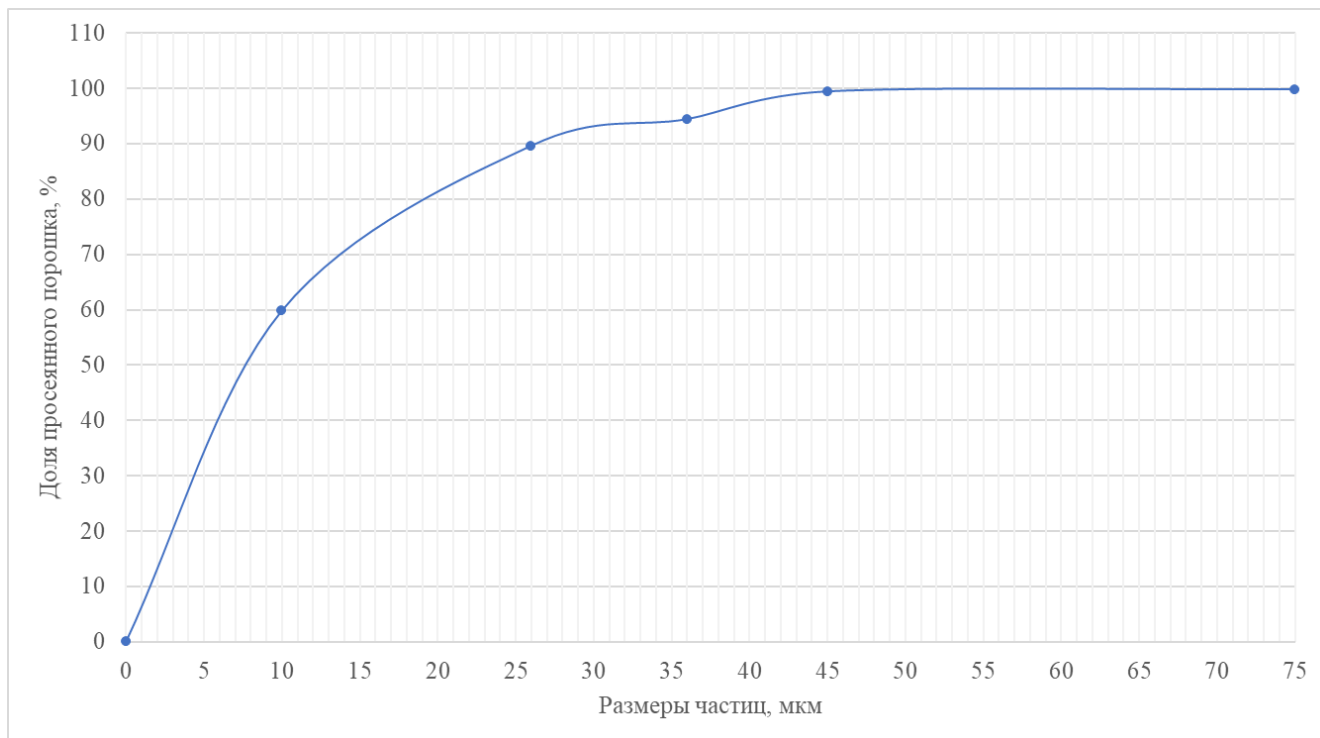


Рисунок 17 – Интегральная кривая распределения частиц по размерам, полученная методом ситового анализа

С помощью полученного распределения частиц по размерам были определены значения D_{10} , D_{50} и D_{90} , то есть диаметры частиц, меньше которых в образце находится 10, 50 и 90 % частиц соответственно. Значение D_{10} составляет 1,5 мкм, D_{50} – 8 мкм, D_{90} – 26,5 мкм. Разброс частиц по размерам (Span) при этом равен 3,13.

Распределение частиц по размерам также было определено с помощью лазерного дифракционного анализатора размеров частиц Mastersizer 3000 (Malvern Panalytical, Великобритания), который показал схожие результаты: D_{10} составил $2,24 \pm 0,03$, D_{50} – $10,50 \pm 0,00$, D_{90} – $22,22 \pm 0,19$, $D[4;3]$ – средний диаметр Де Брукера, то есть средневзвешенный на объем диаметр, являющийся центром масс для функций плотности распределений в единицах объема, составил

$12,35 \pm 0,12$. Логарифмическое распределение частиц по размерам представлено на рисунке 18.

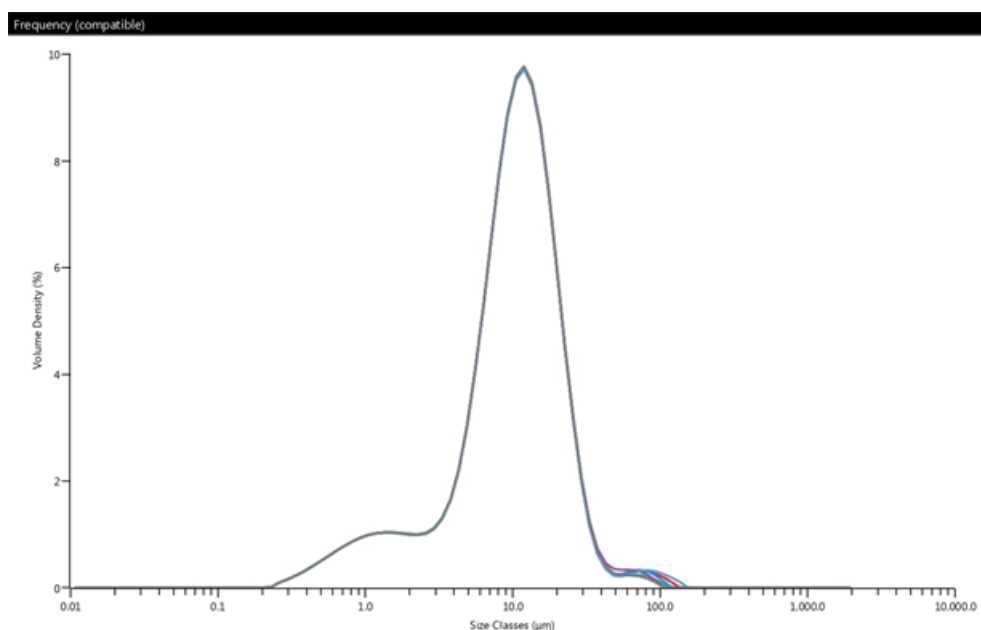


Рисунок 18 – Дифференциальная кривая распределения частиц по размерам, полученная методом лазерной дифракции

Согласно полученным результатам, порошок имеет полидисперсное строение, состоит из частиц размером от 0,35 мкм до 183 мкм (Span составляет 1,9), при этом распределение стремится к нормальному с небольшим плечом в мелкодисперсной области.

Полученные данные о большой площади поверхности частиц АФС склонных к агрегации, 90 % которых имеют размер менее 26,5 мкм согласно ситовому анализу и менее 22,2 мкм согласно лазернодифракционному методу, говорят о возможной низкой сыпучести порошка ФТГХД.

Результаты изучения растворимости АФС в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Растворимость» представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Растворимость ФТГХД

Растворитель	Характеристика
метанол, этанол, 2-пропанол, н-пропанол, изоамиловый спирт, ацетон, тетрагидрофуран, ацетонитрил, диметилформамид, диметилсульфоксид, пиридин	умеренно растворим
этилацетат, 1,4-диоксан	мало растворим
вода, н-гексан, хлороформ, метиленхлорид, толуол	практически нерастворим

Согласно полученным результатам ФТГХД лучше растворяется в протонных (кроме воды) и апротонных полярных растворителях, мало растворим в этилацетате, 1,4-диоксане и практически нерастворим в неполярных гидрофобных растворителях и воде, что согласуется с данными, полученными *in silico*. Данные о растворимости АФС могут быть использованы при разработке аналитических методик, а нерастворимость в воде и гидрофобных растворителях накладывает ограничения на выбор ВВ и технологии обработки АФС в процессе разработки ЛФ на ее основе.

При изучении температуры плавления ФТГХД было установлено, что порошок начинает плавиться при $203,5 \pm 1,7$ °С. При $204,4 \pm 1,3$ °С объем проб уменьшался в два раза и расплавы приобретали матово-желтый цвет, при $208,3 \pm 0,5$ °С расплавы становились прозрачными и желтыми. Таким образом наблюдаются две точки плавления АФС: при 203–204 °С и при 208 °С с последующим разложением вещества. Наличие двух точек плавления может быть объяснено разными температурами плавления двух полиморфов.

Потеря в массе при высушивании АФС в течение 6 часов при температуре 105 °С составила $0,11 \pm 0,068$ %, содержание воды в образцах составило $0,096 \pm 0,010$ %. Исследование гигроскопичности, проведенное согласно монографии Европейской фармакопеи, показало, что ФТГХД относится к негигроскопичным веществам (за 24 часа увеличение в массе составило менее 0,2 % при хранении при 25 ± 1 °С и относительной влажности 80 ± 2 %). Отсутствие гигроскопичности и удовлетворительное содержание влаги в АФС, позволяет

производить твердые ЛФ без использования специальных вспомогательных веществ с низкой гигроскопичностью.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

На основании данных об ADMET характеристиках, физико-химических свойствах, полученных *in silico*, кишечной проницаемости и сродстве к Р-гликопротеиновому переносчику, полученные *in vitro*, а также биофармацевтической растворимости, можно сделать вывод о пригодности ФТГХД в качестве лекарственного вещества для разработки ЛП с анальгетическими и противовоспалительными свойствами для перорального применения.

Исследуемое вещество было отнесено ко II классу БКС, в связи с чем был проведен поиск возможных полиморфов с целью оценки их растворимости. Полиморфный скрининг выявил две возможные полиморфные модификации ФТГХД с приблизительно одинаковым профилем растворения. Было показано, что размер частиц оказывает значимое влияние на скорость растворения ФТГХД в среде хлористоводородной кислоты 0,1 М в течение первых 30 минут, в связи с чем предполагается использование при получении ЛФ исследуемого вещества фракцию с размером частиц менее 50 мкм.

Оценка стабильности исследуемого вещества выявила его фотоллабильность, а также чувствительность к повышенной температуре и влаге, из чего было рекомендовано хранить ФТГХД в защищенном от света месте, а при его обработке избегать воздействия повышенной влажности и температуры.

Данные, полученные при изучении физико-химических свойств ФТГХД накладывают ряд ограничений и идентифицируют о необходимости применения определенных технологических приемов или использования специальных ВВ, в частности, для нивелирования потенциальной неоднородности ЛФ на основе исследуемого вещества.

ГЛАВА 4. ПРОЕКТИРОВАНИЕ ЛФ И ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Теоретическое обоснование выбора лекарственной формы и описание целевого профиля качества лекарственного препарата

В соответствии с принципом QbD определение ЦПК проектируемого ЛП является ключевым моментом в его фармацевтической разработке. ЦПК ЛП представляет собой проспективное описание характеристик проектируемого ЛП, которые планируется достигнуть. При этом, ЦПК ЛП является часть ЦП ЛП, включающего как свойства ЛП, способные влиять на его качество, эффективность и безопасность, так и дизайнерские характеристики будущего продукта [30, 111]. ЦПК ЛП включает множество характеристик проектируемого продукта, теоретически способные в различной степени влиять на его качество. Среди основных таких характеристик, в том числе выделяемых руководством FDA по ОДТ [84], является ЛФ, выбор которой должен быть теоретически обоснован.

Основным планируемым применением изучаемого вещества является анальгезия и терапия воспалительных заболеваний. Патологические и физиологические процессы, сопровождающиеся болью и воспалением, могут наступать внезапно, иметь различную степень интенсивности и зачастую требуют немедленного купирования, то есть ЛФ анальгетика-кандидата должна быть немедленного высвобождения. При этом, заболевания и патологические состояния, сопровождающиеся болью и воспалением, могут носить хронический характер, и следовательно, для ЛП, предназначенных для их терапии, особое значение приобретает комплаенс пациента, то есть проектируемая ЛФ должна быть удобной в повседневном применении и желательно, чтобы для ее введения не требовалось дополнительных условий, например, использования дозирующих устройств, аппликаторов, смешения, разведения и т.д. Помимо этого, отсутствие необходимости в дополнительных компонентах и условиях введения ЛП важно для анальгетических и противовоспалительных средств, поскольку проявление

соответствующих патологических состояний может быть внезапным, в условиях, когда человек не имеет возможности воспользоваться дозирующим устройством, жидкостью или другими условиями, которые необходимо соблюсти для введения ЛС.

Установленные физико-химические свойства изучаемого вещества также накладывают ограничения на выбор ЛФ. ФТГХД относится ко II классу БКС, то есть степень абсорбции вещества лимитируется степенью его перевода в растворимое состояние в физиологических средах, в связи с чем для обеспечения максимальной биодоступности, ФТГХД должен вводиться в организм в растворенном или максимально измельченном, диспергируемом виде. Таким образом, с учетом целевого назначения и физико-химических свойств ФТГХД, одной из наиболее подходящих ЛФ, отвечающих заявленным требованиям, являются таблетки, диспергируемые в полости рта.

Для веществ, для которых предполагается получение ОДТ, имеется ряд требований, так таблетированное соединение должно быть устойчиво в присутствии слюны, не обладать горьким, резким или другим неприятным вкусом и его терапевтическая доза должна быть невысокой. Поскольку ФТГХД по своей природе не является гликозидом, считается маловероятным его нестабильность в присутствии слюны, содержащей в основном ферменты, гидролизующие полисахариды и олигосахара (лизоцим, амилаза, мальтаза и другие). ФТГХД не обладает выраженным горьким или другим вкусом, что может быть объяснено его нерастворимостью при нейтральных значениях pH, а рассчитанная доза для человека составляет 10 мг. Таким образом, исследуемое вещество не нарушает основные рекомендации по выбору веществ для разработки ОДТ.

Ввиду установленной термолабильности и чувствительности к повышенной влажности АФС, а также с учетом необходимости достижения минимальных скорости дезинтеграции ОДТ и затрат на производство, было решено выбрать прямое прессование в качестве наиболее щадящего и рентабельного метода получения проектируемых таблеток.

С учетом выбранной ЛФ, ранее установленных свойств АФС, руководства FDA по ОДТ [84] и регуляторных подходов к контролю качества таблеток ЦПК проектируемого ЛП представлен в таблице 16.

Таблица 16 – ЦПК проектируемого ЛП и его обоснование

Характеристика	Целевое значение	Обоснование
ЛФ	ОДТ	Влияние на эффективность ЛП, комплаенс пациента, учет свойств АФС
Доза	10 мг	Расчет на основе NOEL [8]
Масса таблетки	Менее 500 мг	Масса таблетки ограничена количеством слюны, существует риск неполного диспергирования таблетки и удушения
Размер таблетки	Не более 9 мм	Удобство применения, зависит от массы таблетки
Органолептические свойства	Нейтральный или приятный вкус, отсутствие горечи	Комплаенс пациента
Описание	Белые круглые двояковыпуклые или плоскоцилиндрические таблетки с фаской или без нее, наличие риски при диаметре 9 мм и более в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Таблетки»	Белый цвет и круглая форма таблеток ассоциируется у человека с избавлением от боли, было показано предпочтение пациентов анальгетикам белого цвета и округлой формы [59, 68]
Подлинность / Идентификация	Соответствие требованиям проекта нормативного документа по качеству	Должны быть идентифицированы действующее вещество и при наличии – antimicrobные консерванты и антиоксиданты в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Лекарственные препараты»
Распадаемость	Не более 30 с в воде по методике ГФ РФ, ОФС «Распадаемость таблеток и капсул»	Необходимость быстрого наступления эффекта, рекомендация FDA [84]
Время смачивания	Должно быть минимальным	От времени смачивания зависит распадаемость

Продолжение Таблицы 16

Степень водопоглощения	Должна быть минимальной	Количество жидкости, необходимой для дезинтеграции ОДТ, ограничено количеством слюны
Растворение	Не менее 75 % (Q) ФТГХД от заявленного количества через 45 мин	Вещество относится ко II классу БКС, нормативная часть установлена в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм»
Родственные примеси	Соответствие требованиям проекта нормативного документа по качеству	Вводится в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах»
Однородность дозирования / Однородность дозированных единиц	$AV_{10} \leq 15\%$, $AV_{30} \leq 15\%$ и для 30 из 30 таблеток содержание вещества в интервале 0,75M – 1,25M	Эффективность и безопасность ЛП, нормативная часть в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Однородность дозирования»
Микробиологическая чистота	Категория 3А	Эффективность и безопасность ЛП, нормативная часть в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Микробиологическая чистота»
Количественное определение	Соответствие требованиям проекта нормативного документа по качеству	Должны быть количественно определены действующее вещество и при наличии – antimicrobials консерванты и антиоксиданты в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Лекарственные препараты»
Средняя масса и однородность массы	Нормативная часть в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм»	Эффективность и безопасность ЛП
Истираемость	Не более 3 % (прибор 1), не более 1 % (прибор 2) по ГФ РФ, ОФС «Истираемость таблеток»	Истираемость может влиять на однородность массы и дозирования

Продолжение Таблицы 16

Прочность на раздавливание	Не менее 30 Н в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Прочность таблеток на раздавливание»	Хрупкие таблетки могут быть разрушены при хранении и транспортировке
----------------------------	---------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------

На следующей стадии из ЦПК ЛП были выделены КПК, то есть те характеристики ЛП, которые должны находится в соответствующих пределах, диапазонах или иметь соответствующее распределение для обеспечения качества готового продукта [12]. К характеристикам, входящим в ЦПК ЛП, была применена оценка рисков с целью вычленения показателей качества, вариация которых в процессе разработки может влиять на эффективность и безопасность проектируемого ЛП и которые зависят от качественного и количественного состава ВВ и технологического процесса производства и следовательно, должны быть тщательно изучены. При оценке рисков пользовались двумя основными принципами: оценка риска для качества должна быть основана на научных знаниях и, в конечном счете, направлена на защиту пациента; уровень усилий по снижению риска должен быть соизмерим с уровнем риска [51]. Результаты оценки рисков ЦПК ЛП представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Обоснование выбора КПК проектируемого ЛП

Характеристика	Оценка	Обоснование
Масса таблетки	КПК	От массы таблетки зависит скорость дезинтеграции
Размер таблетки	КПК	Зависит от массы таблетки и параметров процесса
Органолептические свойства	Не КПК	Органолептические свойства не влияют на эффективность и безопасность ЛП
Описание	Не КПК	Внешний вид таблетки не оказывает влияния на эффективность и безопасность ЛП

Продолжение Таблицы 17

Подлинность / Идентификация	КПК (не включен для дальнейшего изучения)	Подлинность действующего вещества в ЛФ является критичным для эффективности ЛП, однако не подвергается изменению в процессе его переработки
Распадаемость	КПК	Скорость дезинтеграции влияет на эффективность ЛП и зависит от состава ЛФ и параметров процесса
Время смачивания	КПК	Влияет на распадаемость, зависит от состава ЛФ и параметров процесса
Степень водопоглощения	КПК	Влияет на эффективность и безопасность ЛП, зависит от состава ЛФ и параметров процесса
Растворение	КПК	С учетом класса БКС оказывает влияние на эффективность ЛП, является маркером биодоступности, зависит от состава ЛФ и параметров процесса
Родственные примеси	КПК (не включен для дальнейшего изучения)	Оказывает влияние на безопасность ЛП, однако практически не зависит от технологического процесса, поскольку предусмотрен метод прямого прессования и изучена совместимость со ВВ
Однородность дозирования / Однородность дозированных единиц	КПК	Оказывает влияние на эффективность и безопасность ЛП, зависит от состава ЛФ и параметров процесса
Микробиологическая чистота	КПК (не включен для дальнейшего изучения)	Оказывает влияние на безопасность ЛП, однако не зависит от параметров процесса и его влияние может быть сведено к минимуму при соблюдении правил надлежащей производственной практики
Количественное определение	КПК (будет оценен одновременно с показателем «Однородность дозирования»)	Оказывает влияние на эффективность и безопасность ЛП, зависит от состава ЛФ и параметров процесса

Продолжение Таблицы 17

Средняя масса и однородность массы	КПК	Оказывает влияние на эффективность и безопасность ЛП, может быть заменен показателем «Однородность дозирования»
Истираемость	КПК	Оказывает влияние на эффективность и безопасность ЛП, поскольку для ОДТ характерна низкая прочность; зависит от состава ЛФ и параметров процесса
Прочность на раздавливание	КПК	Оказывает влияние на эффективность и безопасность ЛП, поскольку для ОДТ характерна низкая прочность; зависит от состава ЛФ и параметров процесса

После того как были установлены КПК необходимо было определить входные переменные (свойства исходных материалов, условия процесса), вариабельность которых наиболее критична для качества, безопасности и эффективности проектируемого ЛП, то есть потенциальные критические показатели материалов (КПМ – CMAs) и критические показателей процесса (КПП – CPPs). Наиболее распространенным методом выявления причинно-следственных связей, а также установления первоначального перечня потенциальных факторов, способных оказывать негативное воздействие на объект, является построение диаграммы Ишикавы, или «рыбий скелет» [42]. Полученная диаграмма Ишикавы представлена на рисунке 19.

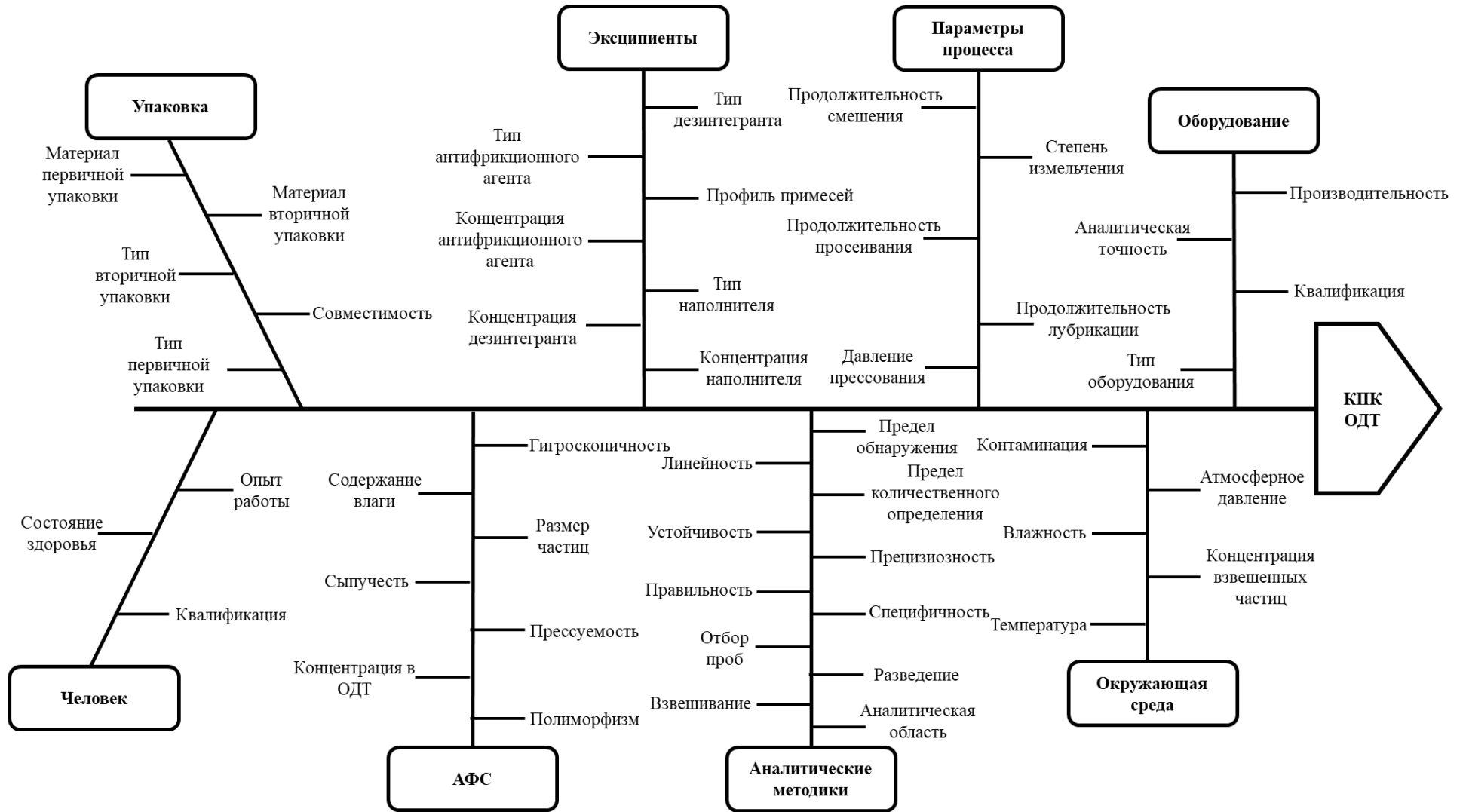


Рисунок 19 – Диаграмма Ишикавы, отображающая влияние потенциальных факторов на КПК

Из множества установленных потенциальных факторов, способных оказывать влияние на критические показатели качества, необходимо вычленить КПМ и КПП. Основным инструментом для установления КПМ и КПП является оценка рисков в соответствии с руководством ICH Q9 «Управление рисками для качества» на основе предварительных экспериментов, имеющихся знаний и опыта, а также литературных данных [51]. Для ранжирования уровня риска, связанного с вышеуказанными факторами, использовалась матрица оценки риска на основе инструмента предварительного анализа опасностей – preliminary hazard analysis (РНА). Относительный риск, который представляет каждый фактор, оценивался как высокий, средний или низкий. Факторы с высоким риском требуют дальнейшего изучения, тогда как характеристики и параметры с низким риском не требуют дальнейшего изучения. Средний риск может считаться приемлемым на основании текущих знаний или требовать уточнения на основе дополнительных исследований [101]. Одна и та же система ранжирования уровня риска использовалась на всем протяжении фармацевтической разработки. Для дальнейшего исследования среди групп факторов, влияющих на КПК ЛП, были исключены условия окружающей среды, человеческие факторы, которые были приняты за условно постоянные. Для углубленного изучения были отобраны факторы, обусловленные свойствами АФС, ВВ, параметрами технологического процесса. Влияние упаковки на КПК ОДТ будет оценено в процессе изучения стабильности ЛФ, а влияние аналитических методик и оборудования будет рассмотрено на дальнейших этапах разработки и масштабирования процесса получения ОДТ.

Результаты предварительного анализа опасностей, связанных с АФС, представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Оценка рисков для АФС

КПК	Характеристики АФС							Прессуемость ²
	Концентрация в ОДТ	Полиморфизм	Размер частиц	Гигроскопичность ²	Содержание влаги ^{1,2}	Сыпучесть ²	Прессуемость ²	
Масса таблеток	высокий	низкий	низкий	низкий	низкий	высокий	высокий	высокий
Размер таблеток	высокий	низкий	низкий	низкий	низкий	высокий	высокий	высокий
Распадаемость	средний	низкий	низкий	низкий	низкий	средний	средний	средний
Время смачивания	средний	низкий	низкий	низкий	низкий	средний	средний	средний
Степень поглощения воды	средний	низкий	низкий	низкий	низкий	средний	средний	средний
Растворение	средний	низкий	высокий	низкий	низкий	средний	средний	средний
Однородность дозирования	высокий	низкий	высокий	низкий	низкий	высокий	высокий	высокий
Истираемость	низкий	низкий	низкий	низкий	низкий	низкий	низкий	низкий
Прочность на раздавливание	низкий	низкий	низкий	низкий	средний	низкий	низкий	низкий

¹влияние может быть сведено к минимуму, ²зависит от концентрации АФС

Риски влияния гигроскопичности, содержания влаги, сыпучести и прессуемости на КПК ЛП будут пропорциональны содержанию действующего вещества в таблетке. Гигроскопичность АФС теоретически может способствовать смачиванию, абсорбции воды и дезинтеграции, однако изучаемое вещество было классифицировано как практически не гигроскопичное, поэтому риски влияния данного свойства АФС на соответствующие КПК были оценены как низкие. Влиянию содержания влаги на прочность ОДТ может быть дана оценка «средний» ввиду потенциальной способности влаги участвовать в цементации таблетки после прессования, однако с учетом нормирования ее содержания при осуществлении входного контроля серии АФС ее влияние может быть сведено к минимуму. Таким образом, в зависимости от концентрации действующего вещества в таблетке остается влияние на КПК сыпучести и прессуемости АФС.

Высокие уровни риска были присвоены концентрации АФС, от которой будет зависеть количество ВВ, необходимых для обеспечения надлежащей сыпучести и прессуемости, необходимых для смесей, предназначенных для прямого прессования, и следовательно масса таблетки, ее размеры. Также известно влияние содержания АФС в смеси на однородность дозирования ЛП [47]. Степени водопоглощения, степени высвобождения ДВ, распадаемости и времени смачивания был присвоен средний уровень риска, поскольку изучаемое вещество ввиду своей гидрофобности плохо смачивается, что может негативно сказаться на абсорбции воды, однако данные КПК в большей степени зависят от концентрации дезинтегранта, чем от АФС и наполнителя. От сыпучести и прессуемости АФС будет зависеть количество ВВ, и следовательно, потенциально те же КПК, на которые оказывает влияние концентрация АФС, однако их вклад в риск влияния на КПК будет минимизирован на предварительных этапах подбора модельных составов при изучении сыпучести смесей.

Полиморфизм и распределение частиц по размерам не зависят от концентрации АФС в таблетке, поэтому рассматриваются независимо. Различные полиморфы могут различаться некоторыми физико-химическими свойствами, в основном растворимостью и стабильностью, однако, ввиду того что выявленные

на стадии предварительных исследований полиморфы имели одинаковую растворимость, влияние полиморфизма на распадаемость, время смачивания, степень водопоглощения и растворение были оценены как низкие. Влиянию распределения частиц по размерам на профиль высвобождения АФС и однородность дозирования ОДТ был присвоен высокий риск, поскольку известно влияние размера частиц на профиль растворения вещества, а также влияние распределения частиц по размерам на однородность содержания действующего вещества в ЛФ [47].

Риски влияния остальных параметров были оценены как низкие, ввиду из незначительного потенциального влияния.

Таким образом для дальнейшего углубленного изучения влияния входных параметров на КПК ЛП, в качестве КПМ, обусловленных характеристиками АФС были выбраны: концентрация вещества в ОДТ, распределение частиц по размерам, сыпучесть и прессуемость.

Результаты предварительного анализа рисков, обусловленных ВВ, представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Оценка рисков для ВВ

КПК	Характеристики ВВ			
	Наполнитель и его концентрация	Дезинтегрант и его концентрация	Смазывающее и его концентрация	Профиль примесей
Масса таблетки	высокий	низкий	низкий	низкий
Размер таблетки	высокий	низкий	низкий	низкий
Распадаемость	средний	высокий	высокий	низкий
Время смачивания	средний	высокий	высокий	низкий
Степень водопоглощения	средний	высокий	низкий	низкий
Растворение	средний	высокий	высокий	низкий
Однородность дозирования	высокий	низкий	высокий	низкий
Истираемость	высокий	средний	средний	низкий
Прочность на раздавливание	высокий	средний	средний	низкий

Физические и геометрические параметры таблетки в наибольшей степени будут зависеть от количества разбавителя в ОДТ, который составляет большую часть массы смеси для прямого прессования.

Скорость дезинтеграции таблетки в наибольшей степени обусловлена содержанием разрыхлителя. Дезинтегрант также оказывает существенное влияние на время смачивания, степень водопоглощения. Риск воздействия наполнителя на данные КПК был оценен как средний, поскольку природой и количеством разбавителя в том числе обусловлена степень и скорость абсорбции влаги и следовательно скорость дезинтеграции. В зависимости от природы и количества антифрикционного агента, существует риск брака по распадаемости, поскольку гидрофобность большинства скользящих веществ снижает смачиваемость частиц таблеток, что также может сказаться на профиле растворения, соответствующие риски были оценены как высокие.

Профиль растворения находится в зависимости от дезинтеграции таблеток и следовательно, от типа дезинтегранта и его количества, также известны солубилизирующие свойства некоторых разрыхлителей, что значимо для веществ II класса БКС. Также требуется оценить возможность влияния данного типа ВВ на однородность дозирования, истираемость и прочность на раздавливание ОДТ, поскольку существуют соответствующие сообщения [60].

Однородность единиц дозирования зависит в том числе от реологических свойств таблетуемой смеси, за которые ответственен разбавитель и глидант, соответствующие риски оценены как высокие.

Истираемость и прочность таблеток в большей степени обусловлены природой разбавителя, которому присвоена наибольшая степень риска, но также возможно как положительное, так и негативное влияние дезинтегранта, соответствующий риск оценен как средний.

Риск влияния профиля примесей ВВ на выделенные КПК можно считать низким при надлежащем выборе поставщиков, использовании ВВ фармакопейного качества и осуществлении входного контроля.

Таким образом, для дальнейших исследований в качестве КПМ были отобраны: тип и количество наполнителя, дезинтегранта, антифрикционного агента в ЛФ.

Результаты предварительного анализа рисков, обусловленных вариабельностью параметров технологического процесса, представлены в таблице 20.

Первоначальный риск влияния параметров просеивания на КПК может быть оценен как низкий при соблюдении визуального контроля полноты прохождения частиц порошка сквозь сито или нормирования отношения отсева и просева.

Недостаточная продолжительность смешения компонентов ОДТ оказывает сильное влияние на гомогенность таблетлируемой смеси, а чрезмерное смешение может привести к сегрегации порошка АФС, особенно микронизированного с высокой площадью поверхности, поэтому влияние продолжительности смешения компонентов было оценено как высокое.

В том числе от давления прессования будет зависеть высота таблетки, соответствующий риск влияния оценен как средний. Высокий риск брака по распадаемости и соответственно продолжительное время смачивания характерны для «пережатых» таблеток, что может привести также к негативному влиянию на высвобождение ДВ. Таблетки, к которым приложено недостаточное давление прессования, будут иметь высокую истираемость и низкую прочность на раздавливание, соответствующим факторам присвоен высокий риск.

Продолжительность лубрикации смеси также должно быть оптимальным, поскольку излишнее по времени смешение компонентов с гидрофобным агентом может оказать влияние на смачиваемость, распадаемость и профиль растворения вещества. Липофильные свойства скользящего вещества также препятствуют прессованию порошка и следовательно, могут увеличить истираемость ЛФ. Соответствующие риски оценены как средние ввиду относительно небольшого содержания данного типа ВВ в ЛФ.

Таким образом, для дальнейших исследований отобраны такие параметры процесса как: продолжительность смешения основных компонентов, продолжительность лубрикации и давление прессования.

Таблица 20 – Оценка рисков для параметров технологического процесса

КПК	Параметры технологического процесса				
	Время смешения	Время просеивания	Интенсивность просеивания	Время лубрикации	Давление прессования
Масса таблетки	низкий	низкий	низкий	низкий	низкий
Размер таблетки	низкий	низкий	низкий	низкий	средний
Распадаемость	низкий	низкий	низкий	средний	высокий
Время смачивания	низкий	низкий	низкий	средний	высокий
Степень водопоглощения	низкий	низкий	низкий	низкий	низкий
Растворение	низкий	низкий	низкий	средний	высокий
Однородность дозирования	высокий	низкий	низкий	средний	низкий
Истираемость	низкий	низкий	низкий	средний	высокий
Прочность на раздавливание	низкий	низкий	низкий	средний	высокий

4.2. Изучение совместимости АФС с основными ВВ, применяемыми в технологии ОДТ

В соответствии с руководством ICH Q8 «Фармацевтическая разработка» на предварительной стадии разработки ЛФ, должна быть установлена совместимость АФС с потенциальными ВВ. Испытание совместимости дает предварительную оценку физическим и химическим взаимодействиям, которые могут возникнуть в процессе получения и хранения проектируемого ЛП, установить возможные продукты деградации действующего вещества и продукты взаимодействия со ВВ. Изучение совместимости позволяет отсеять ВВ, в наибольшей степени способные влиять на качество ЛП, избежать ошибок при выборе ВВ, тем самым уменьшив издержки фармацевтической разработки и оценить возможный срок годности и условия хранения ЛП.

На основе часто применяющихся композиций в ОДТ были приготовлены двухкомпонентные смеси АФС со ВВ в соотношениях, более критичных, чем предполагается в проектируемой ЛФ. Смеси АФС с наполнителями готовились в соотношении 1:5, с дезинтегрантами – в соотношении 1:3, с антифрикционными агентами и корригентами – в соотношении 1:1. Смеси после замешивания хранились в закупоренных резиновыми пробками стеклянных флаконах при температуре 45 ± 2 °С и относительной влажности 75 ± 5 % в течение 3 месяцев. По истечении указанного периода образцы смесей были проанализированы хроматографическим методом, описанным в разделе 2.3.5. Результаты изучения совместимости представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Совместимость АФС со ВВ

ВВ	Соотношение количества АФС к ВВ	Содержание единичной примеси
Маннитол	1:5	0,19
Сорбитол	1:5	0,17
МКЦ 102	1:5	0,24
Лактозы моногидрат	1:5	0,53
Кросповидон	1:3	0,18

Продолжение Таблицы 21

Кроскармеллоза	1:3	0,20
Натрия крахмала гликолят	1:3	0,25
Магния стеарат	1:1	0,31
Натрия стеарилфумарат	1:1	0,28
Тальк	1:1	0,24
Аспартам	1:1	0,19
Ароматизатор лимонный	1:1	0,34

Согласно полученным результатам с учетом более критичного содержания ВВ и условий хранения, ФТГХД совместим с полиольными наполнителями – маннитолом и сорбитолом, при этом наблюдается рост примесей в смеси, содержащей МКЦ 102, возможно за счет остаточного содержания пероксидов и восстанавливающих сахаров, поскольку изучаемая АФС содержит нуклеофильные центры, что также может объяснить значительный рост единичной примеси в присутствии восстанавливающего дисахарида – лактозы моногидрата. Дезинтегранты в целом совместимы с АФС и дают схожий профиль примесей в полученных смесях, при этом натрия крахмала гликолят показал наихудший результат. Среди антифрикционных агентов наибольшую совместимость продемонстрировал тальк, в то время как в смесях с более щелочными по своей природе вещества – магния стеаратом и натрия стеарилфумаратом – наблюдается более выраженный рост примесей. Аспартам показал хорошую совместимость с ФТГХД, при этом ароматизатор лимонный за счет природного происхождения и содержания значительного количества сопутствующих веществ характеризуется более выраженным ростом примесей.

Таким образом, для дальнейших исследований с учетом совместимости в качестве наполнителей были отобраны: маннитол, сорбитол, в качестве дезинтегрантов – кросповидон, кроскармеллоза, а в качестве антифрикционных агентов – магния стеарат, натрия стеарилфумарат и тальк. В качестве корригентов вкуса при необходимости могут быть применены аспартам и ароматизатор лимонный.

4.3. Оценка технологических свойств АФС и модельных смесей с применением метода SeDeM

После установления совместимости со основными ВВ, были оценены с помощью метода SeDeM технологические свойства АФС с целью установления ее пригодности для прямого прессования и выявления характеристик, требующих корректировки. Результаты оценки технологических свойств субстанции ФТГХД представлены в таблице 22, соответствующая лепестковая диаграмма – на рисунке 20.

Таблица 22 – Результаты оценки технологических свойств АФС

Характеристика	Обозначение, размерность	Экспериментальное значение, V	Значение радиуса R
Насыпная плотность без уплотнения	ρ_0 , г/мл	0,36	3,6
Насыпная плотность после 1250 соскоков	ρ_1 , г/мл	0,53	5,3
Коэффициент прессуемости	CI, %	31,83	3,63
Коэффициент Хауснера	HR	1,47	5,1
Сыпучесть*	F, г/с	0	0
Угол естественного откоса**	A, °	46,37	0,73
Прессуемость	C, H	82	4,1
Потеря в массе при высушивании	L, %	0,11	9,78
Гигроскопичность	H, %	0,008	10
Частицы размером менее 50 мкм	P, %	99,4	0,06
Внутренняя пористость	I	0,89	7,42
Разброс частиц по размерам	S	3,13	6,87

Продолжение Таблицы 22

ИРР (средний радиус)	4,72
IGP (f = 0,952)	4,49
IP	0,5

*10 мм воронка, **25 мм воронка

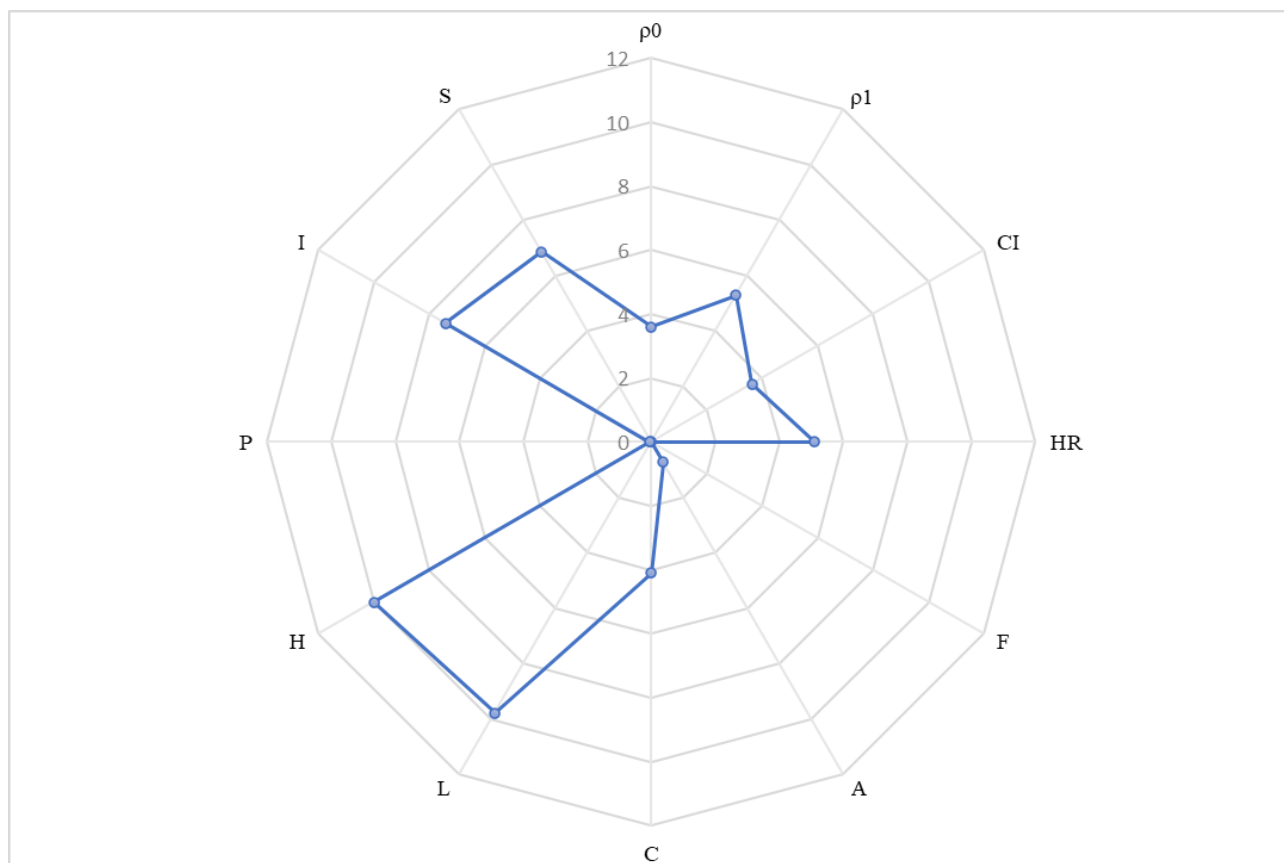


Рисунок 20 – Лепестковая диаграмма технологических свойств АФС

Согласно параметрическому индексу АФС занимает промежуточное положение с точки зрения пригодности для прямого прессования (вещество считается пригодным, если $IP \geq 0,5$), однако индекс хорошего прессования (IGP) указывает на необходимость корректировки некоторых показателей. Для выявления характеристик, требующих корректировки, были рассчитаны параметры, представленные в таблице 23.

Таблица 23 – Оценка корректирующей необходимости

Параметр	Значение
Объемный параметр (средний радиус объемов до и после уплотнения)	4,45
Параметр прессуемости (средний радиус коэффициента прессуемости, собственно прессуемости, внутренней пористости)	5,05
Параметр сыпучести (средний радиус коэффициента Хауснера, сыпучести, угла естественного откоса)	1,94
Параметр стабильности (средний радиус потери в массе при высушивании и гигроскопичности)	9,89
Параметр однородности (средний радиус частиц размером менее 50 мкм и разброса частиц по размерам)	3,47

Согласно представленной лепестковой диаграмме и результатам оценки корректирующей необходимости, можно сделать вывод о хорошей прессуемости АФС, в связи с чем нет необходимости применения дополнительных связующих агентов, а применение наполнителей с приемлемой формуемостью может обеспечить надлежащую прочность ОДТ, в связи с чем уровень риска негативного влияния данной характеристики АФС на КПК может быть переоценен со среднего на низкий. Необходима корректировка сыпучести порошка субстанции с целью нивелирования значимости данного КПК, а также следует обратить внимание на возможный риск неоднородности смесей АФС со ВВ.

С учетом совместимости и необходимости достижения хорошей сыпучести и однородности таблетлируемой смеси в качестве кандидатов в наполнители были выбраны маннитол и сорбитол, в качестве дезинтегрантов – натрия кроскармеллоза и кросповидон. Для корректировки сыпучести и уменьшения адгезивных свойств таблетлируемой смеси в качестве антифрикционных агентов были выбраны традиционно применяемые магния стеарат и более гидрофильный натрия стеарилфумарат. Тальк не был отобран для дальнейших исследований, поскольку не обеспечивал надлежащей силы выталкивания на ранних стадиях подбора состава. Модельные составы представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Содержание компонентов в модельных составах для предварительных исследований в %

Компонент	Состав №							
	1	2	3	4	5	6	7	8
АФС	5	5	5	5	5	5	5	5
Маннитол	84	-	84	-	84	-	84	-
Сорбитол	-	84	-	84	-	84	-	84
Кроскармеллоза	10	10	-	-	10	10	-	-
Кросповидон	-	-	10	10	-	-	10	10
Магния стеарат	1	1	1	1	-	-	-	-
Натрия стеарилфумарат	-	-	-	-	1	1	1	1

Модельные смеси готовили путем смешения половины массы наполнителя с АФС в зип-пакете, к которому прибавляли дезинтегрант и оставшуюся часть наполнителя, продолжали перемешивать до получения однородной массы. Полученную смесь просеивали через сито 355 мкм, прибавляли антифрикционный агент, перемешивали в течение около 5 минут и оценивали аналогично АФС на пригодность к прямому прессованию. Результаты представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Результаты оценки технологических свойств модельных смесей

Параметр	Смесь №							
	1	2	3	4	5	6	7	8
ρ_0 , г/мл	0,50	0,56	0,50	0,55	0,51	0,56	0,48	0,54
ρ_1 , г/мл	0,59	0,63	0,59	0,62	0,59	0,62	0,55	0,60
СI, %	18,00	12,50	18,00	12,73	15,69	10,71	14,58	11,11
HR	1,18	1,13	1,18	1,13	1,16	1,11	1,15	1,11
F, г/с	6,79	8,20	6,74	8,10	6,84	8,30	6,81	8,30
A, °	26,00	26,00	28,00	26,00	28,00	27,00	30,00	29,00
C, Н	87,00	88,00	112,00	91,33	86,00	86,33	98,00	88,67
L, %	2,22	2,37	0,12	0,31	2,13	2,29	0,12	0,28
H, %	9,85	9,97	0,48	2,33	9,88	9,94	0,52	2,39
P, %	13,00	10,20	13,70	11,00	14,00	11,00	16,00	11,50
I	0,31	0,20	0,31	0,21	0,27	0,17	0,27	0,19
S	2,46	2,80	2,43	3,04	2,59	2,92	2,56	2,97

Принимая во внимание схожесть значений технологических параметров и необходимость учета совокупности характеристик для выбора наиболее оптимального состава был применен метод SeDeM, построены лепестковые диаграммы, представленные на рисунке 21 и рассчитаны соответствующие радиусы лепестковых диаграмм, представленные в таблице 26.

Таблица 26 – Значения радиусов и параметров оценки пригодности смесей по предкомпрессионным характеристикам

Параметр	Состав №							
	1	2	3	4	5	6	7	8
ρ_0	5,00	5,60	5,00	5,50	5,10	5,60	4,80	5,40
ρ_1	5,90	6,30	5,90	6,20	5,90	6,20	5,50	6,00
CI	6,40	7,50	6,40	7,45	6,86	7,86	7,08	7,78
HR	6,07	6,23	6,07	6,23	6,13	6,30	6,17	6,30
F	5,66	6,83	5,62	6,75	5,70	6,92	5,68	6,92
A,	4,80	4,80	4,40	4,80	4,40	4,60	4,00	4,20
C	4,35	4,40	5,60	4,57	4,3	4,32	4,90	4,43
L	5,56	5,26	9,76	9,38	5,74	5,42	9,76	9,44
H	5,08	5,02	9,76	8,84	5,06	5,03	9,74	8,81
P	8,70	8,98	8,63	8,90	8,60	8,90	8,40	8,85
I	2,58	1,67	2,58	1,75	2,25	1,42	2,25	1,58
S	7,54	7,20	7,57	6,96	7,41	7,08	7,44	7,03
IPR	5,64	5,82	6,44	6,44	5,62	5,80	6,31	6,40
IGP (f = 0,952)	5,37	5,54	6,13	6,13	5,35	5,52	6,01	6,09
IP	0,75	0,75	0,83	0,75	0,75	0,75	0,67	0,75
Объемный параметр	5,45	5,95	5,45	5,85	5,5	5,9	5,15	5,7
Параметр прессуемости	4,44	4,52	4,86	4,59	4,47	4,53	4,74	4,6
Параметр сыпучести	5,51	5,95	5,36	5,93	5,41	5,94	5,28	5,81
Параметр стабильности	5,32	5,14	9,76	9,11	5,4	5,23	9,75	9,13
Параметр однородности	8,12	8,09	8,1	7,93	8,01	7,99	7,92	7,94

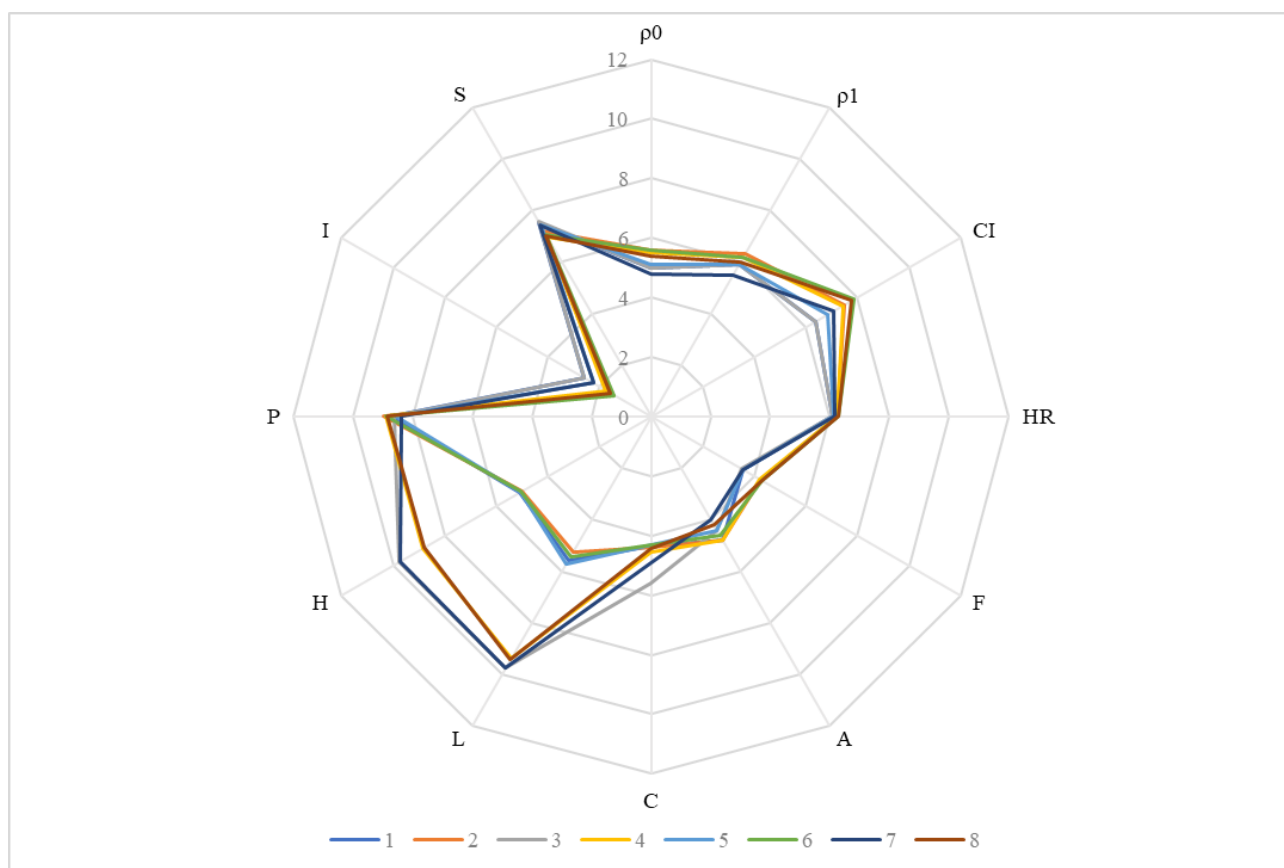


Рисунок 21 – Предкомпрессионные характеристики модельных составов

Согласно таблице 26 все полученные смеси считаются пригодными для прямого прессования, так как параметрические индексы профиля, индексы хорошего прессования имеют значения больше 5,0 и параметрические индексы имеют значения больше 0,5. Наибольшие значения индекса хорошего прессования у составов № 3 и 4, содержащие кросповидон и магния стеарат, и отличающиеся друг от друга только наполнителем, при этом состав № 3, содержащий в качестве разбавителя маннитол имеет наибольший параметрический индекс.

Составы, содержащие сорбитол характеризуются лучшей сыпучестью (параметр сыпучести от 5,81 до 5,95) по сравнению с составами, содержащими маннитол (параметр сыпучести от 5,28 до 5,51), что может быть объяснено большим содержанием крупных частиц в сорбитоле, в смесях на основе которого сравнительно небольшое количество частиц менее 50 мкм (10,2 – 11,5 %), а D_{50} находится в диапазоне от 195 до 202 мкм. Большое содержание крупных частиц в сорбитоле также приводит к относительной неоднородности размеров частиц

смеси, поскольку порошки АФС, дезинтегранта и опудривающих агентов являются мелкоизмельченными, что потенциально может привести к неоднородности содержания действующего вещества в ОДТ. Несмотря на сравнительно лучшую формуемость сорбитола, смеси с его содержанием характеризуются немного меньшей прочностью получаемых таблеток, однако параметр прессуемости для сорбитол- и маннитолосодержащих смесей не имеют значимых отличий. Замена натрия кроскармеллозы на кросповидон немного улучшает прочность таблеток, замена магния стеарата на натрия стеарилфумарат немного улучшает сыпучесть, но при этом увеличивает угол естественного откоса, в связи с чем параметр сыпучести натрия стеарилфумаратосодержащих смесей ниже, чем у смесей с магния стеаратом.

В связи с неоднозначностью полученных результатов изучения технологических свойств, полученные смеси были спрессованы при давлении 6 кН с получением таблеток диаметром 9 мм и оценены по КПК. Поскольку смеси содержали АФС при одной концентрации, таблетки имели приблизительно одну массу (200 мг) и диаметр около 9 мм, в связи с чем по данным КПК не проводилась оценка. Для упрощения анализа испытание по показателю однородность дозирования для всех смесей было заменено на оценку однородности массы, результат которой приведен в виде среднего отклонения. Результаты оценки полученных ОДТ по КПК представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Оценка модельных таблеток по КПК

КПК	Состав №							
	1	2	3	4	5	6	7	8
DT, с	35,67	39,00	37,67	40,33	34,00	38,33	36,67	39,67
WT, с	79,00	71,33	67,67	66,00	75,33	72,33	65,33	65,67
WAR, %	154,67	160,67	123,00	126,67	162,33	173,33	124,00	131,33
Re, % за 45 мин	55,41	56,41	74,08	69,13	58,94	59,63	70,54	67,68
WV (среднее отклонение), %	1,06	1,29	0,90	1,65	1,07	1,19	1,16	1,47

Продолжение Таблицы 27

Fr, %	0,34	0,26	0,13	0,19	0,42	0,52	0,22	0,24
-------	------	------	------	------	------	------	------	------

При первичном анализе полученных результатов можно отметить, что время дезинтеграции маннитолосодержащих составов (нечетные составы) меньше, чем ОДТ на основе сорбитола (четные), что может быть объяснено более мелким размером частиц маннитола, которые обеспечивают более быстрый распад ОДТ, при этом время смачивания таблеток с более растворимым наполнителем – сорбитолом ниже у всех четных составов, кроме восьмого. Замена маннитола на сорбитол также способствует увеличению степени водопоглощения ОДТ. При этом, состав наполнителя не влияет на степень высвобождения АФС (рисунок 22).

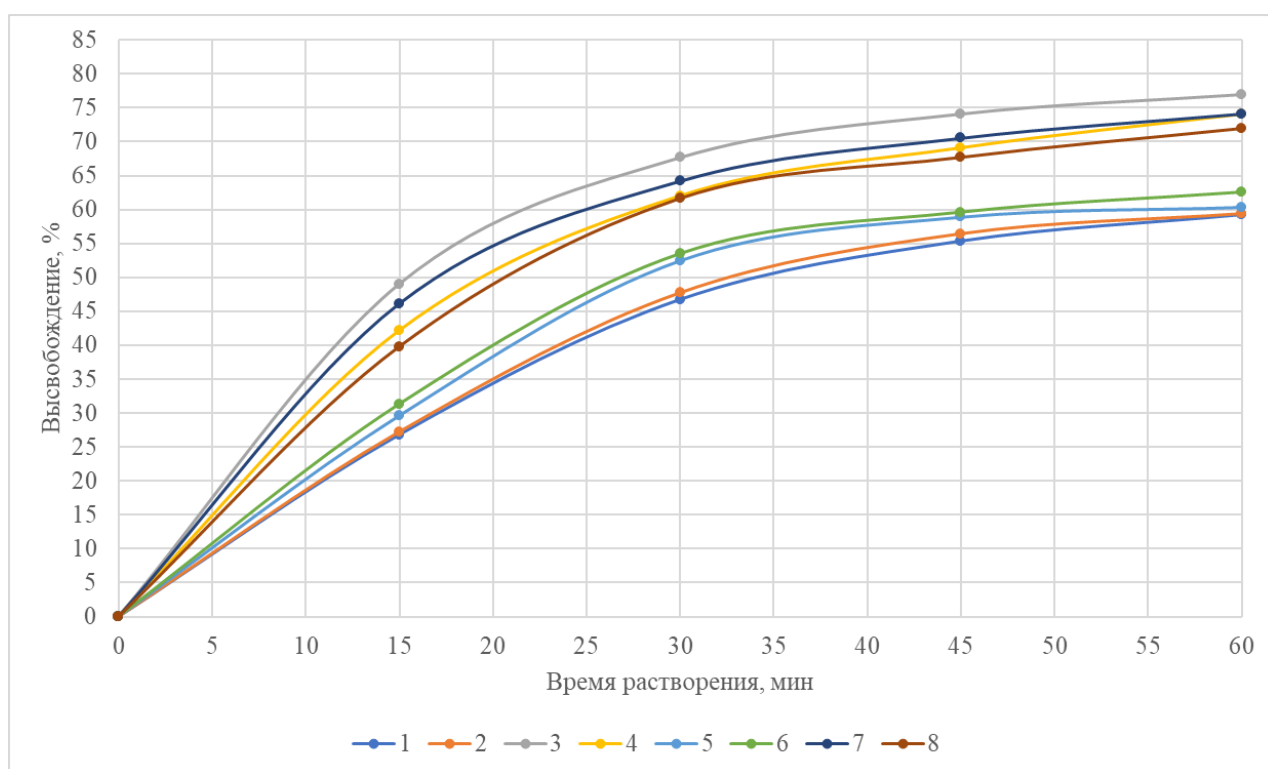


Рисунок 22 – Профили растворения модельных составов

Составы, содержащие сорбитол, характеризуются меньшей однородностью по массе и в целом большей истираемостью, что может быть объяснено несколько меньшей прочностью сорбитолосодержащих ОДТ.

Замена натрия кроскармеллозы на кросповидон увеличивает скорость распада соответствующих таблеток, что связано с большей скоростью смачивания кросповидоносодержащих составов, в которых соответствующий дезинтегрант за счет наиболее выраженных у него капиллярных свойств обеспечивает быстрое проникновение влаги внутрь ОДТ. Степень водопоглощения, наоборот, выше у кроскармеллозосодержащих составов, поскольку для соответствующего дезинтегранта характерна большая степень набухания. Кросповидон за счет своих солубилизирующих свойств обеспечивает большее высвобождение АФС, чем натрия кроскармеллоза. Кросповидон как порошок, содержащий большой процент мелких частиц, характеризуется большей прессуемостью и обеспечивает большую прочность таблеток, для которых характерна меньшая истираемость, однако значительная фракция мелких частиц несколько ухудшает сыпучесть смеси, что могло привести к большей неоднородности массы соответствующих ОДТ.

Таблетки, содержащие магния стеарат распадаются медленнее, чем аналогичные составы с более гидрофильным натрием стеарилфумаратом. Большой гидрофильностью натрия стеарилфумарата также может быть объяснены в целом меньшее время смачивания и большая степень водопоглощения соответствующих составов. Природа антифрикционного агента не оказывало влияние на степень высвобождения АФС и однородность массы, но замена магния стеарата на натрия стеарилфумарат способствовала большей истираемости таблеток.

С учетом неоднозначности полученных результатов, для качественного выбора состава, первичные данные были обработаны методом SeDeM, рассчитаны параметры пригодности, представленные в таблице 28 и построены соответствующие лепестковые диаграммы (рисунок 23).

Таблица 28 – Значения радиусов и параметров оценки пригодности ОДТ

КПК	Состав №							
	1	2	3	4	5	6	7	8
DT	4,06	3,50	3,72	3,28	4,33	3,61	3,88	3,39
WT	3,42	4,06	4,36	4,50	3,72	3,97	4,56	4,53
WAR	2,27	1,97	3,85	3,67	1,88	1,33	3,80	3,43
Re, за 45 мин	5,54	5,64	7,41	6,91	5,89	5,96	7,05	6,77
WV (среднее отклонение)	8,59	8,28	8,81	7,80	8,57	8,41	8,45	8,05
Fr	6,61	7,42	8,75	8,13	5,79	4,80	7,80	7,57
IPP	5,08	5,15	6,15	5,72	5,03	4,68	5,92	5,62
IGP (f = 0,827)	4,20	4,26	5,09	4,73	4,16	3,87	4,90	4,65
IP	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,33	0,50	0,50

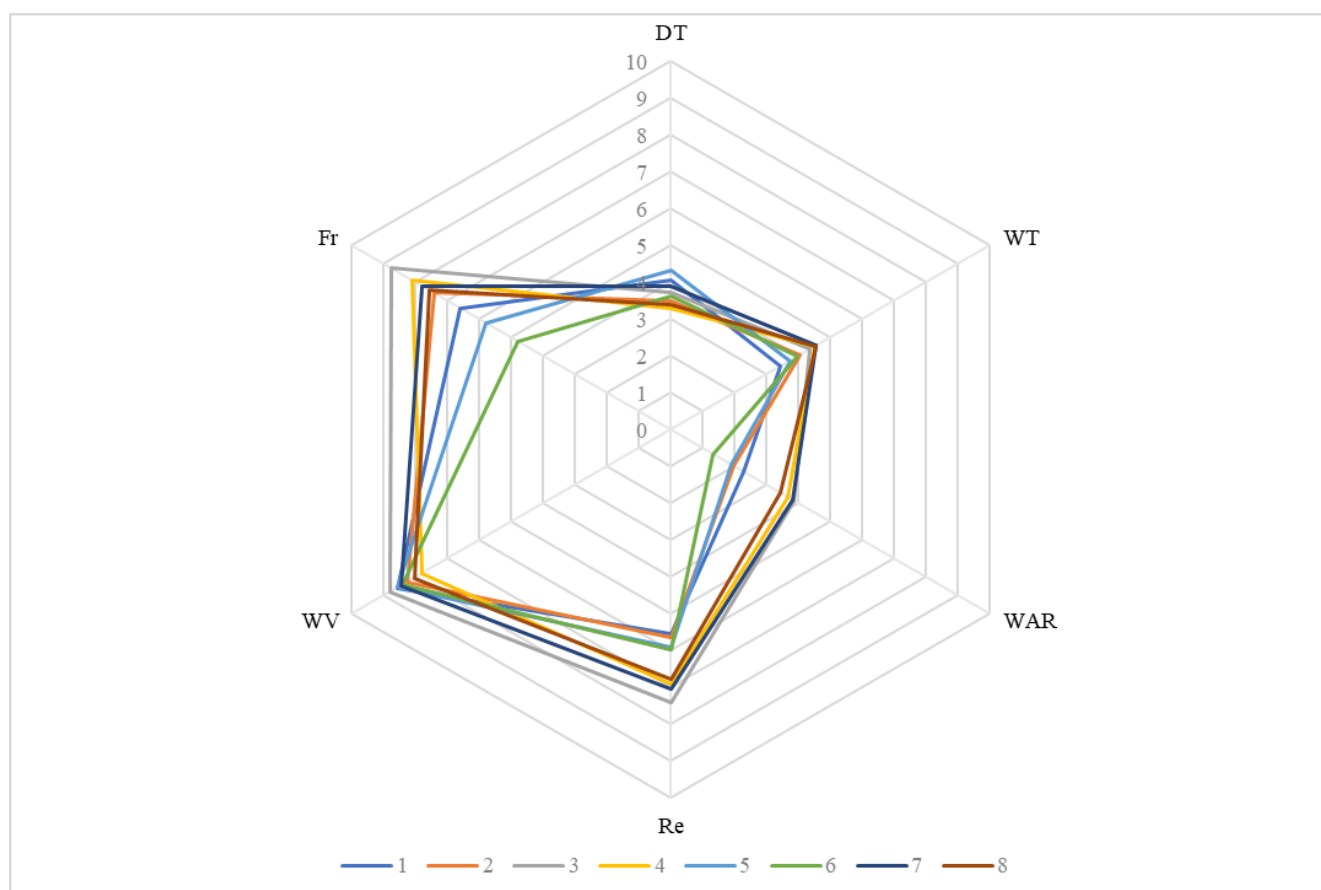


Рисунок 23 – Посткомпрессионные характеристики модельных составов

Согласно таблице 28 с учетом индекса IP все полученные смеси удовлетворяют заявленным требованиям, кроме состава № 6, содержащего сорбитол, кроскармеллозу и натрия стеарилфумарат. Эта же комбинация ВВ характеризуется наименьшим индексом хорошего прессования (IGP) и единственным значением IPP менее 5,00. Наибольшее значение всех индексов у состава № 3 (маннитол + кросповидон + магния стеарат), и он же является единственным составом с индексом IGP более 5,00 единиц.

Для учета всех характеристик изученных смесей и соответствующих ОДТ, были рассчитаны объединенные параметры оценки пригодности составов для прямого прессования, представленные в таблице 29.

Таблица 29 – Совмещенная таблица результатов SeDeM анализа для 18 показателей

Общие параметры	Состав №							
	1	2	3	4	5	6	7	8
IPP	5,45	5,59	6,34	6,20	5,42	5,43	6,18	6,14
IGP (f = 0,980)	5,34	5,48	6,21	6,08	5,31	5,32	6,06	6,02
IP	0,67	0,67	0,72	0,67	0,67	0,61	0,61	0,67

С учетом 18 показателей все изученные составы пригодны для прямого прессования, поскольку имеют значения IPP, IGP и IP больше 5,00, однако наибольшее значение всех общих параметров оценки пригодности имеет состав № 3, который был взят за основу для дальнейшего углубленного изучения количественного влияния свойств АФС, ВВ и технологических параметров на КПК разрабатываемых ОДТ.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

В соответствии с принципом QbD с учетом планируемого терапевтического применения и полученных данных о свойствах АФС производного ФТГХД была научно обоснована разрабатываемая ЛФ изучаемого вещества – таблетки, диспергируемые в полости рта. Прямое прессование было выбрано качестве наиболее подходящего способа получения проектируемой ЛФ.

На основе регуляторных требований и рекомендаций был описан ЦПК проектируемого ЛП, из которого на основе оценки рисков были вычленены КПК. Для установления первоначального перечня потенциальных факторов, способных оказывать негативное воздействие на КПК проектируемого ЛП, была построена диаграмма Ишикавы. Из полученного перечня, после исключения условно постоянных и незначительных для технологического процесса факторов, с применением матрицы оценки риска на основе инструмента предварительного анализа опасностей были установлены КПМ и КПП.

После обоснования ЛФ и подхода к ее получению была оценена совместимость изучаемой АФС с основными ВВ, используемыми в технологии получения ОДТ методом прямого прессования. На основе полученных данных для дальнейших исследований были выбраны наполнители (маннитол, сорбитол), дезинтегранты (кросповидон, кроскармеллоза) и антифрикционные агенты (магния стеарат, натрия стеарилфумарат).

При оценке технологических свойств АФС с применением метода SeDeM были установлены характеристики, требующие корректировки для достижения приемлемого профиля качества.

Оценка с применением метода SeDeM модельных составов, содержащих выбранные ВВ, по совокупности предкомпрессионных характеристик и КПК показала превалирование 3 состава, содержащего маннитол, кросповидон и магния стеарат. Состав № 3 был использован для углубленного изучения КПМ и КПП на КПК проектируемого ЛП и оптимизации его состава и технологии получения.

ГЛАВА 5. ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ЛФ И ПРОЦЕССА ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДИЗАЙНА БОКСА-БЕНКЕНА И МЕТОДА ПОВЕРХНОСТНОГО ОТКЛИКА

Для углубленного изучения влияния исходных материалов и параметров процесса на КПК проектируемого ЛП, а также с целью оптимизации выбранного модельного состава и технологии его получения были применены трехуровневые планы Бокса-Бенкена, разработанные для методологии поверхностного отклика. Метод поверхностного отклика применяется для отображения отношений между несколькими независимыми переменными и одним или несколькими выходными данными (откликами), при этом для описания подобных взаимоотношений Боксом и Уилсоном предложено использовать полиномиальную модель второго порядка. Применение планов Бокса-Бенкена позволяет существенно сократить необходимое для получения искомой модели количество экспериментов, при этом, он применим только для условия трехуровневого варьирования факторов. Так, для полнофакторного эксперимента для описания зависимости выходных данных от трех факторов с помощью полинома второго порядка, потребуется 3 уровня варьирования и проведение 27 опытов (без повторов), тогда как метод Бокса-Бенкена позволяет сократить количество экспериментов до 15, два из которых для достоверности являются репликами [44].

В соответствии с проведенной оценкой рисков в качестве независимых переменных были выбраны: характеристика АФС, а именно – ее концентрация в ОДТ (фактор А); фактор, обусловленный наличием в составе проектируемой ЛФ ВВ – концентрация кросповидона в ОДТ (фактор В) и параметр технологического процесса – давление прессования (фактор С). В качестве зависимых переменных (откликов) рассматривались КПК проектируемого ЛП. Матрица планирования в соответствии с планами Бокса-Бенкена для трехфакторного эксперимента и значения соответствующих уровней варьирования независимых переменных представлены в таблице 30.

Таблица 30 – Матрица эксперимента в соответствии с планами Бокса-Бенкена

Эксперимент №	Уровни			Значения уровней		
	А	В	С	Концентрация АФС, %	Концентрация кросповидона, %	Давление прессования, кН
1	-1	-1	0	5,0	5,0	4,0
2	1	-1	0	10,0	5,0	4,0
3	-1	1	0	5,0	15,0	4,0
4	1	1	0	10,0	15,0	4,0
5	-1	0	-1	5,0	10,0	2,0
6	1	0	-1	10,0	10,0	2,0
7	-1	0	1	5,0	10,0	6,0
8	1	0	1	10,0	10,0	6,0
9	0	-1	-1	7,5	5,0	2,0
10	0	1	-1	7,5	15,0	2,0
11	0	-1	1	7,5	5,0	6,0
12	0	1	1	7,5	15,0	6,0
13	0	0	0	7,5	10,0	4,0
14	0	0	0	7,5	10,0	4,0
15	0	0	0	7,5	10,0	4,0

Смеси, приготовленные по методике, описанной в разделе 4.3, оценивали по степени сыпучести согласно ГФ РФ, ОФС «Степень сыпучести порошков», соответствующие результаты представлены в таблице 31.

Таблица 31 – Предкомпрессионные исследования смесей для оптимизации

Смесь №	ρ_0 , г/мл	ρ_1 , г/мл	HR	F, с	A, °	Степень сыпучести
1	0,55	0,62	1,13	6,93	27,00	Очень хорошая
2	0,51	0,60	1,18	6,58	32,00	Хорошая
3	0,48	0,59	1,23	6,61	32,00	Хорошая
4	0,45	0,59	1,31	6,01	37,00	Удовлетворительная
5, 7*	0,50	0,59	1,19	6,71	29,00	Очень хорошая
6, 8*	0,47	0,58	1,24	6,34	33,00	Хорошая
9, 11*	0,54	0,61	1,14	6,85	29,00	Очень хорошая
10, 12*	0,47	0,58	1,25	6,49	35,00	Хорошая
13, 14, 15*	0,47	0,57	1,21	6,51	33,00	Хорошая

*составы 5 и 7; 6 и 8; 9 и 11; 10 и 12; 13–15 имеют одинаковое соотношение ВВ, для указанных составов приведены средние значения предкомпрессионных характеристик

Согласно полученным результатам, все смеси пригодны для прямого прессования без дополнительного перемешивания или вибрации. При этом лишь для 4 состава сыпучесть была охарактеризована как «удовлетворительная», что может быть объяснено наибольшим содержанием в нем как мелкоизмельченной АФС, так и кросповидона, что также подтверждается увеличением сыпучести и уменьшением коэффициента Хауснера при уменьшении содержания данных компонентов в смеси.

Полученные смеси были таблетированы при соответствующих давлениях прессования и оценены по КПК ЛП.

5.1. Статистический анализ влияния независимых переменных на распадаемость и время смачивания

Согласно регуляторным требованиям, ОДТ должны распадаться за время, не превышающее 30 с. Полученные экспериментальные и предсказанные на основе регрессионного анализа значения времени дезинтеграции и смачивания, а также разница между ними представлены в таблице 32.

Таблица 32 – Экспериментальные и предсказанные значения распадаемости и времени смачивания

ОДТ №	Распадаемость, с			Время смачивания, с		
	ЭЗ*	ПЗ*	О*	ЭЗ*	ПЗ*	О*
1	26,67	25,80	0,87	41,33	40,79	0,54
2	27,00	26,71	0,29	42,00	41,08	0,92
3	12,33	12,62	-0,29	18,50	19,42	-0,92
4	12,67	13,54	-0,87	18,83	19,37	-0,54
5	19,33	19,58	-0,25	31,00	31,31	-0,31
6	21,00	20,67	0,33	31,83	32,52	-0,69
7	30,00	30,33	-0,33	49,50	48,81	0,69
8	31,33	31,08	0,25	48,17	47,86	0,31
9	25,67	26,29	-0,62	38,67	38,90	-0,23
10	14,00	13,46	0,54	19,83	18,60	1,23
11	36,67	37,21	-0,54	55,33	56,56	-1,23
12	24,33	23,71	0,62	34,00	33,77	0,23
13	25,67	26,00	-0,33	37,00	36,94	0,06

Продолжение Таблицы 32

14	26,00	26,00	0,00	36,83	36,94	-0,11
15	26,33	26,00	0,33	37,00	36,94	0,06

*ЭЗ – экспериментальные значения, ПЗ – предсказанные значения, О – отклонения

Согласно полученным результатам, заявленным требованиям к распадаемости ОДТ соответствуют все составы, кроме 8 и 11, при этом скорость распада существенно зависит от трех выбранных переменных и варьируется от 12,33 до 36,67 с. Результаты статистической обработки полученных результатов представлены в таблице 33.

Таблица 33 – Статистическая обработка результатов оценки распадаемости и времени смачивания

Член уравнения	t-значение		p-значение		VIF	
	DT	WT	DT	WT	DT	WT
Константа	52,89	55,87	0,00	0,00	-	-
A	1,52	0,15	0,19	0,88	1,00	1,00
B	-21,88	-26,60	0,00	0,00	1,00	1,00
C	17,58	20,27	0,00	0,00	1,00	1,00
A ²	-6,87	-3,03	0,00	0,03	1,01	1,01
B ²	-7,43	-8,34	0,00	0,00	1,01	1,01
C ²	5,55	8,37	0,00	0,00	1,01	1,01
A × B	0,01	-0,15	1,00	0,89	1,00	1,00
A × C	-0,20	-0,94	0,85	0,39	1,00	1,00
B × C	-0,39	-1,09	0,71	0,33	1,00	1,00

Концентрация АФС, кросповидона и давление прессования оказывают статистически значимое влияние на распадаемость и время смачивания ($p < 0,05$). Согласно t-значению, увеличение концентрации кросповидона способствует существенному уменьшению времени дезинтеграции и смачивания, а давления прессования – значительному увеличению значений обоих КПК проектируемого ЛП, при этом влияние концентрации АФС имеет параболический вид. Контурные графики для распадаемости и график поверхностного отклика для времени смачивания представлены на рисунке 24.

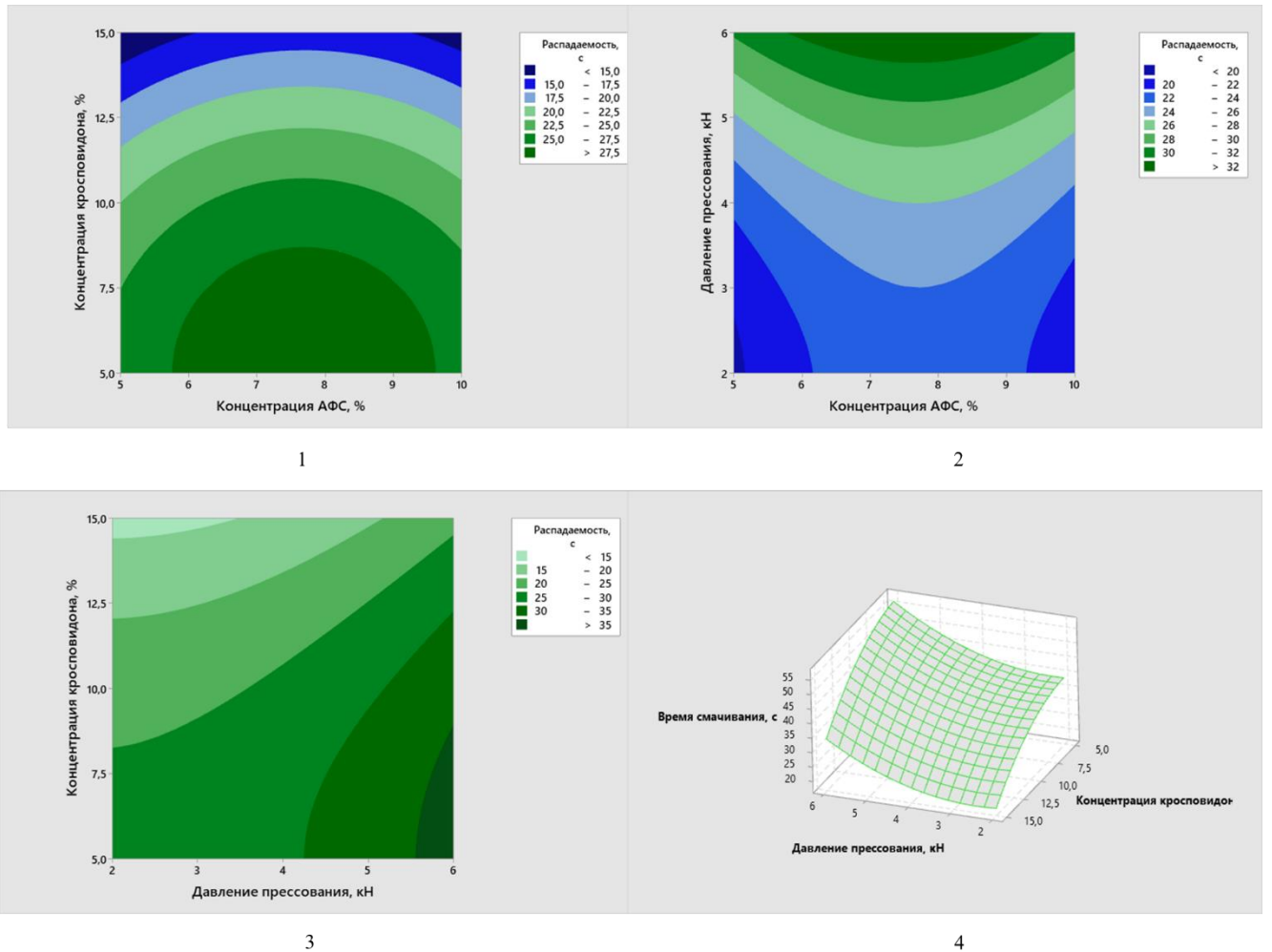


Рисунок 24 – Контурные графики для распадаемости (1 – 3), график поверхностного отклика для времени смачивания при концентрации АФС равной 7,5 % (4)

Рассчитанные факторы инфляции дисперсии (VIF), равные менее 5,00, являются индикаторами отсутствия мультиколлинеарности (корреляции между входными переменными). Для описания зависимости распадаемости и времени смачивания ОДТ от независимых переменных предложены следующие квадратные уравнения, полученные из множественного регрессионного анализа методом наилучшего соответствия:

$$\text{Распадаемость} = -4,76 + 7,55 \times A + 1,38 \times B - 1,97 \times C - 0,49 \times A^2 - 0,13 \times B^2 + 0,61 \times C^2 + 0,0002 \times A \times B - 0,017 \times A \times C - 0,0168 \times B \times C;$$

$$\text{Время смачивания} = 19,45 + 4,86 \times A + 2,12 \times B - 4,44 \times C - 0,29 \times A^2 - 0,20 \times B^2 + 1,25 \times C^2 - 0,0068 \times A \times B - 0,108 \times A \times C - 0,0622 \times B \times C;$$

коэффициенты корреляции (R^2) при этом составляют 99,46 и 99,61 % соответственно, что говорит о высокой пригодности выбранной модели для описания откликов.

При анализе вида полученных уравнений и графиков, можно заметить, что выбранные регрессанты имеют схожую зависимость от изученных предикторов: время дезинтеграции и смачивания уменьшаются с ростом концентрации кросповидона и уменьшением давления прессования, при этом для концентрации АФС характерен максимум значений откликов при концентрации около 7,5 %, что может быть с одной стороны объяснено размерами таблетки (более крупные таблетки с меньшим содержанием АФС требуют больше времени для распада), а с другой стороны гидрофобностью ФТГХД, который при большей концентрации препятствует смачиванию и дезинтеграции ОДТ.

Для полученных экспериментальных значений была установлена зависимость между временем смачивания и скоростью дезинтеграции. Результат регрессионного анализа представлен на рисунке 25. Таким образом, на основе полученного коэффициента детерминации и исправленного R^2 можно сделать вывод о крепкой корреляционной зависимости: с уменьшением скорости смачивания – уменьшается скорость дезинтеграции ОДТ, что подтверждает капиллярные процессы в качестве основного механизма распадаемости ОДТ, содержащих кросповидон.

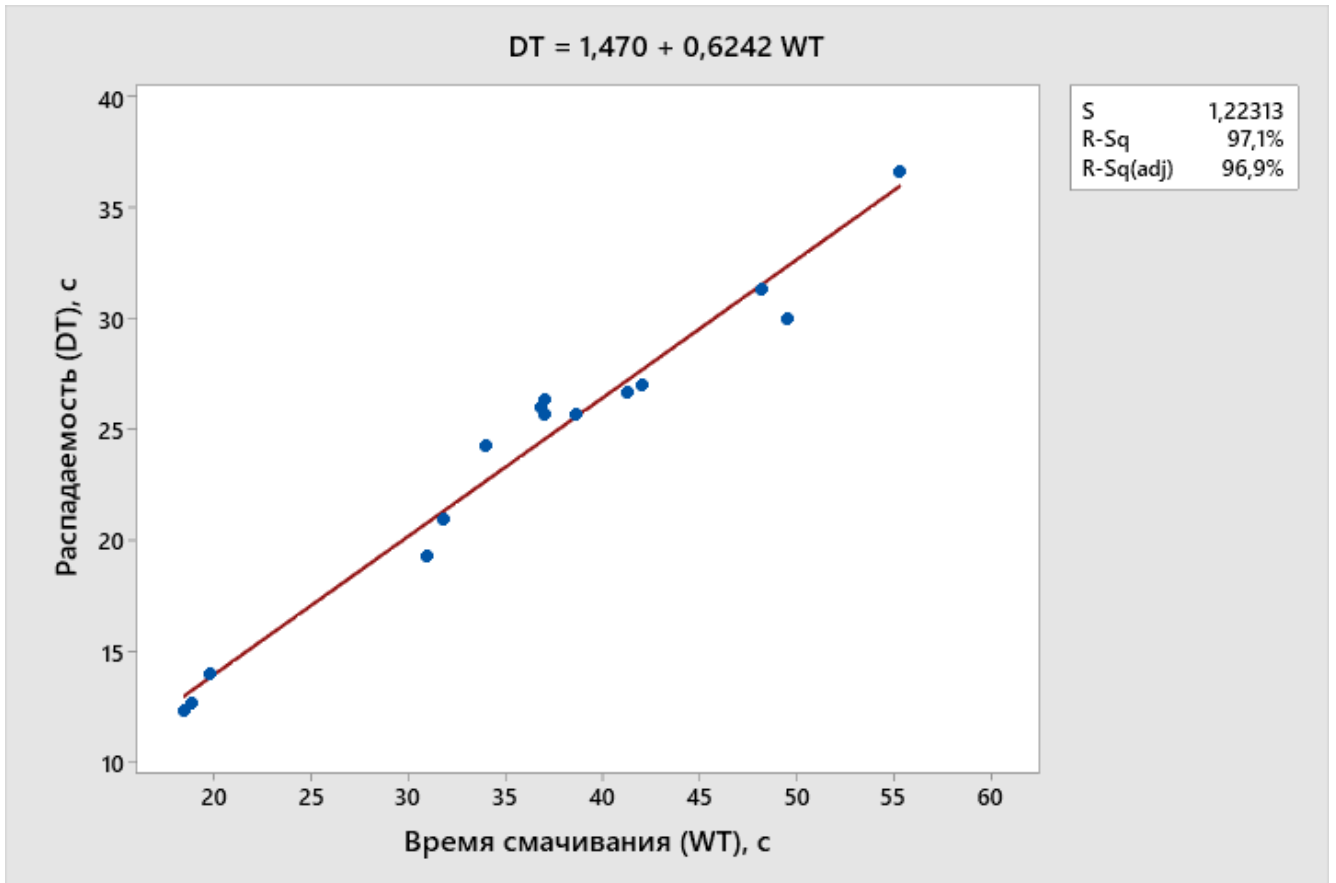


Рисунок 25 – Корреляция между временем смачивания и распадаемостью

5.2. Статистический анализ влияния независимых переменных на степень водопоглощения

Экспериментальные значения степени водопоглощения и предсказанные на основе регрессионного анализа, а также соответствующие отклонения представлены в таблице 34.

Таблица 34 – Экспериментальные и предсказанные значения степени водопоглощения

Эксперимент №	Полученное значение	Рассчитанное значение	Отклонение
1	111,89	111,08	0,81
2	105,81	105,59	0,22
3	136,63	136,85	-0,22
4	131,57	132,38	-0,81
5	125,79	126,50	-0,71
6	120,95	121,07	-0,12

Продолжение Таблицы 34

7	125,55	125,43	0,12
8	121,61	120,90	0,71
9	108,31	108,42	-0,11
10	134,11	133,18	0,93
11	105,35	106,28	-0,93
12	134,20	134,09	0,11
13	123,35	123,12	0,23
14	122,48	123,12	-0,64
15	123,53	123,12	0,41

При анализе полученных результатов было установлено, что статистически значимое влияние на степень водопоглощения ОДТ оказывают: концентрация кросповидона и концентрация АФС, при значительном превалировании первого фактора (рисунок 26).

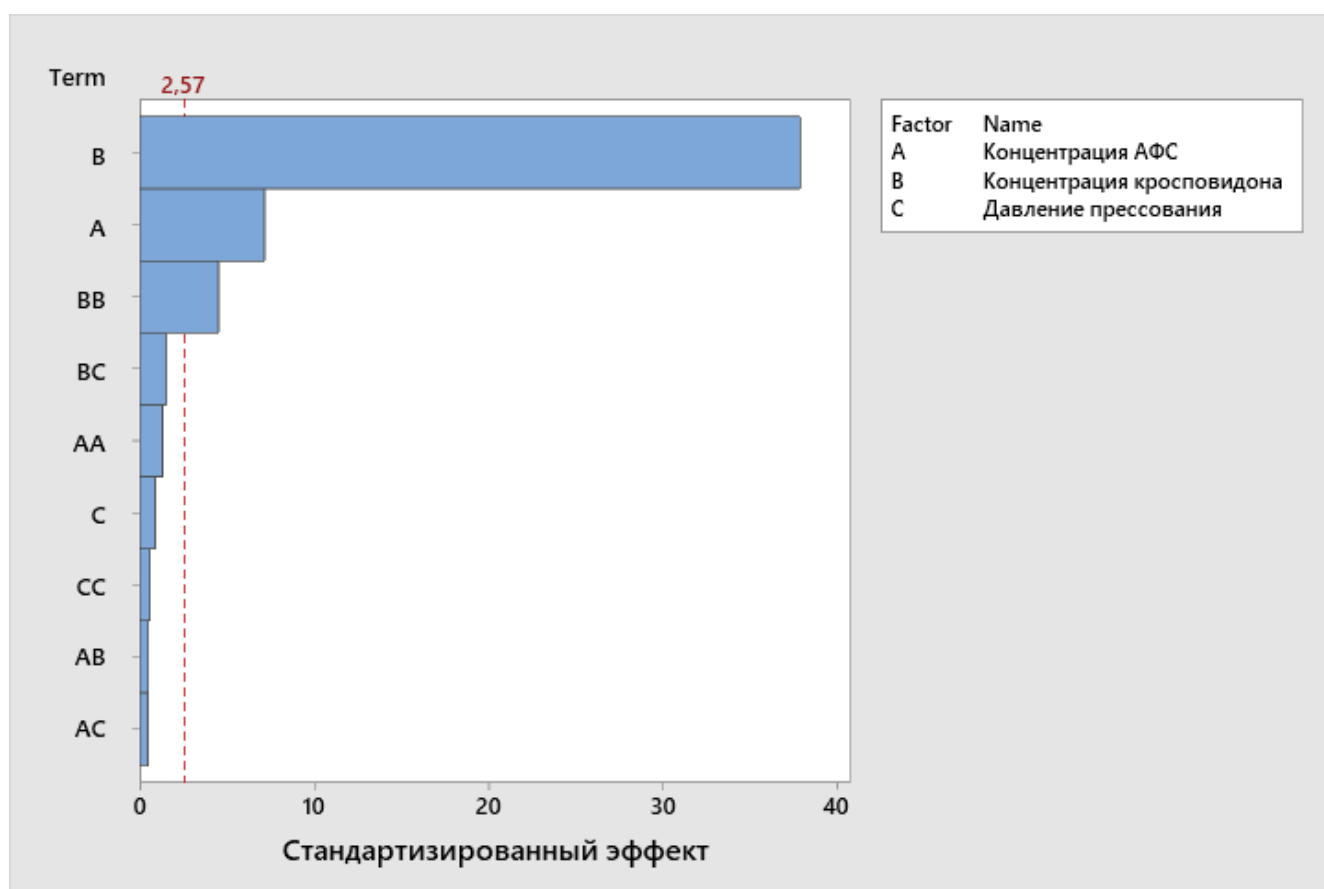


Рисунок 26 – Диаграмма Парето стандартизированных эффектов для степени водопоглощения (факторы со стандартизированным откликом, превышающем значение 2,57, имеют статистическую значимость)

При этом количество абсорбируемой влаги пропорционально содержанию дезинтегранта и обратно пропорционально концентрации АФС, от которой зависит масса таблетки и следовательно, количество наполнителя, также способного, однако в меньшей степени, поглощать влагу. Таким образом, минимальная степень водопоглощения наблюдается для таблеток меньшего размера с минимальным количеством кросповидона (рисунок 27).

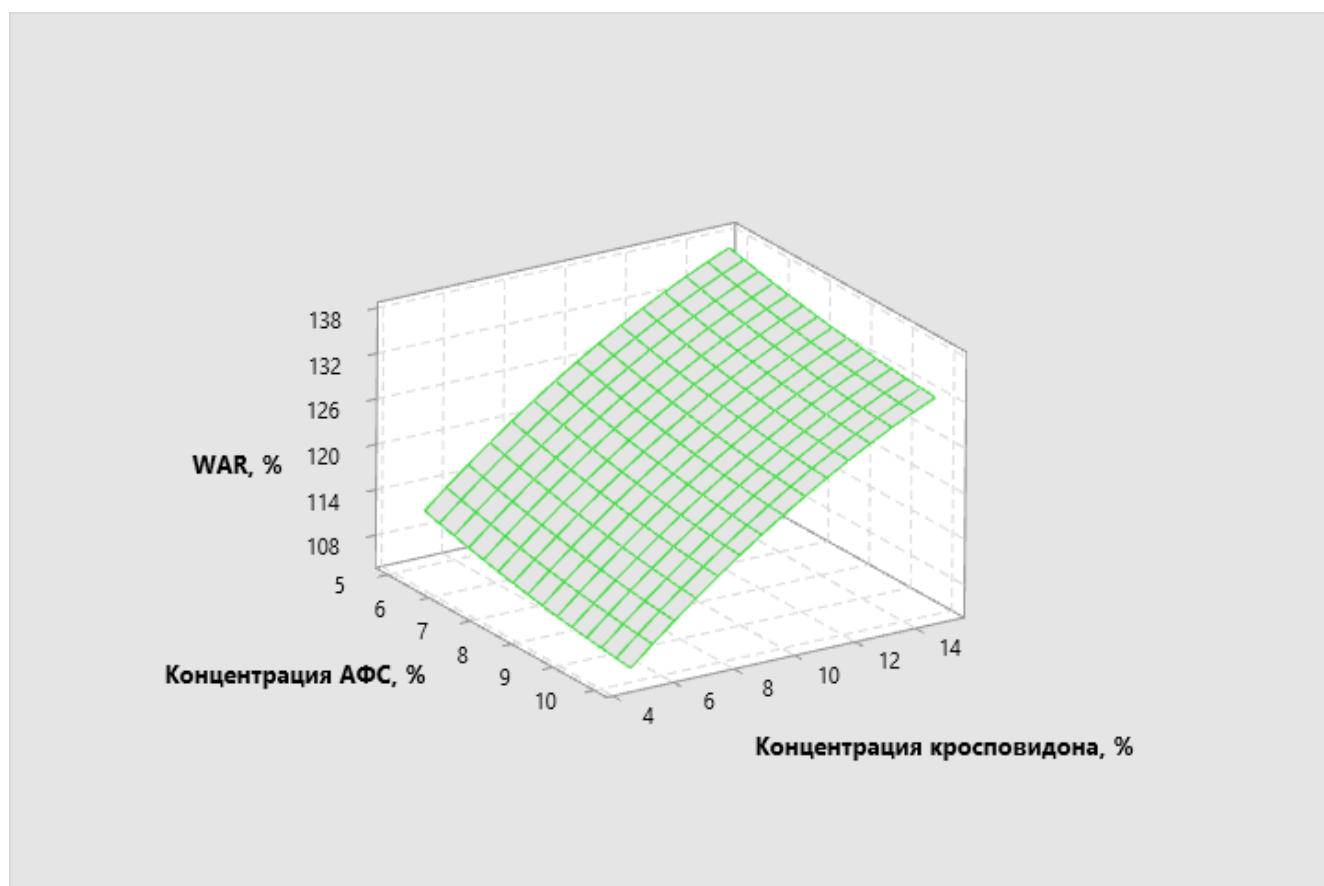


Рисунок 27 – График поверхностного отклика для степени водопоглощения (WAR) при давлении прессования равном 4 кН

Предложенное уравнение регрессии, для которого коэффициент детерминации составляет 99,67 %, имеет вид:

$$\text{Степень водопоглощения} = 106,35 - 2,99 \times A + 4,022 \times B - 0,63 \times C + 0,1070 \times A^2 - 0,0926 \times B^2 - 0,078 \times C^2 + 0,0204 \times A \times B + 0,045 \times A \times C + 0,0762 \times B \times C.$$

5.3. Статистический анализ влияния независимых переменных на высвобождение ФТГХД

В соответствии с ГФ РФ, ОФС «Растворение» за 45 минут в среду растворения должно высвобождаться не менее 75 % (Q) действующего вещества, если не обосновано иное. Экспериментальные и рассчитанные значения высвобождения приведены в таблице 35.

Таблица 35 – Экспериментальные и предсказанные значения оценки показателя «Растворение»

Эксперимент №	Полученное значение	Рассчитанное значение	Отклонение
1	58,12	57,87	0,25
2	45,99	45,06	0,93
3	83,47	84,40	-0,93
4	69,97	70,22	-0,25
5	74,11	74,32	-0,21
6	61,03	61,92	-0,89
7	75,20	74,31	0,89
8	59,94	59,73	0,21
9	52,18	52,22	-0,04
10	78,22	77,08	1,14
11	48,98	50,12	-1,14
12	77,00	76,96	0,04
13	65,89	66,90	-1,01
14	66,92	66,90	0,02
15	67,88	66,90	0,98

Результаты экспериментов 3, 10 и 12, в которых использовались составы, содержащие максимальную изученную концентрацию кросповидона (15 %), отвечают заявленным требованиям. При этом, примечательно, что в 4 эксперименте, в котором также было испытана максимальная концентрация дезинтегранта, не было достигнуто желаемого эффекта. Результаты регрессионного анализа полученных данных представлены в таблице 36.

Таблица 36 – Статистическая обработка результатов оценки теста «Растворение»

Член уравнения	t-значение	p-значение	VIF
Константа	90,82	0,00	-
A	-14,96	0,00	1,00
B	28,65	0,00	1,00
C	-1,22	0,28	1,00
A ²	0,73	0,50	1,01
B ²	-4,51	0,01	1,01
C ²	0,29	0,79	1,01
A × B	-0,54	0,61	1,00
A × C	-0,85	0,43	1,00
B × C	0,78	0,47	1,00

Согласно полученным результатам, статистически значимое влияние на высвобождение ФТГХД оказывают: концентрация АФС и кросповидона в ОДТ. При этом, указанные два фактора характеризуются противоположными друг другу эффектами.

При анализе полученных результатов было сделано предположение о зависимости высвобождения ФТГХД от соотношения указанных двух предикторов, для подтверждения чего был проведен регрессионный анализ, результаты которого представлены на рисунке 28. На основе полученного коэффициента детерминации и исправленного R^2 можно сделать вывод о крепкой обратной зависимости между соотношением количеств АФС и дезинтегранта, и высвобождением ФТГХД, то есть при увеличении концентрации кросповидона по отношению к АФС увеличивается степень перехода ФТГХД в растворимое состояние, так при увеличении отношения кросповидона к АФС с 0,5:1 (эксперимент № 2) до 3:1 (эксперимент № 3) высвобождение увеличивается на 37,48 % в натуральном выражении. Данное взаимодействие двух переменных может быть объяснено солюбилизующим или комплексообразующим действием кросповидона по отношению к ФТГХД, растворимость которого увеличивается с ростом концентрации дезинтегранта.

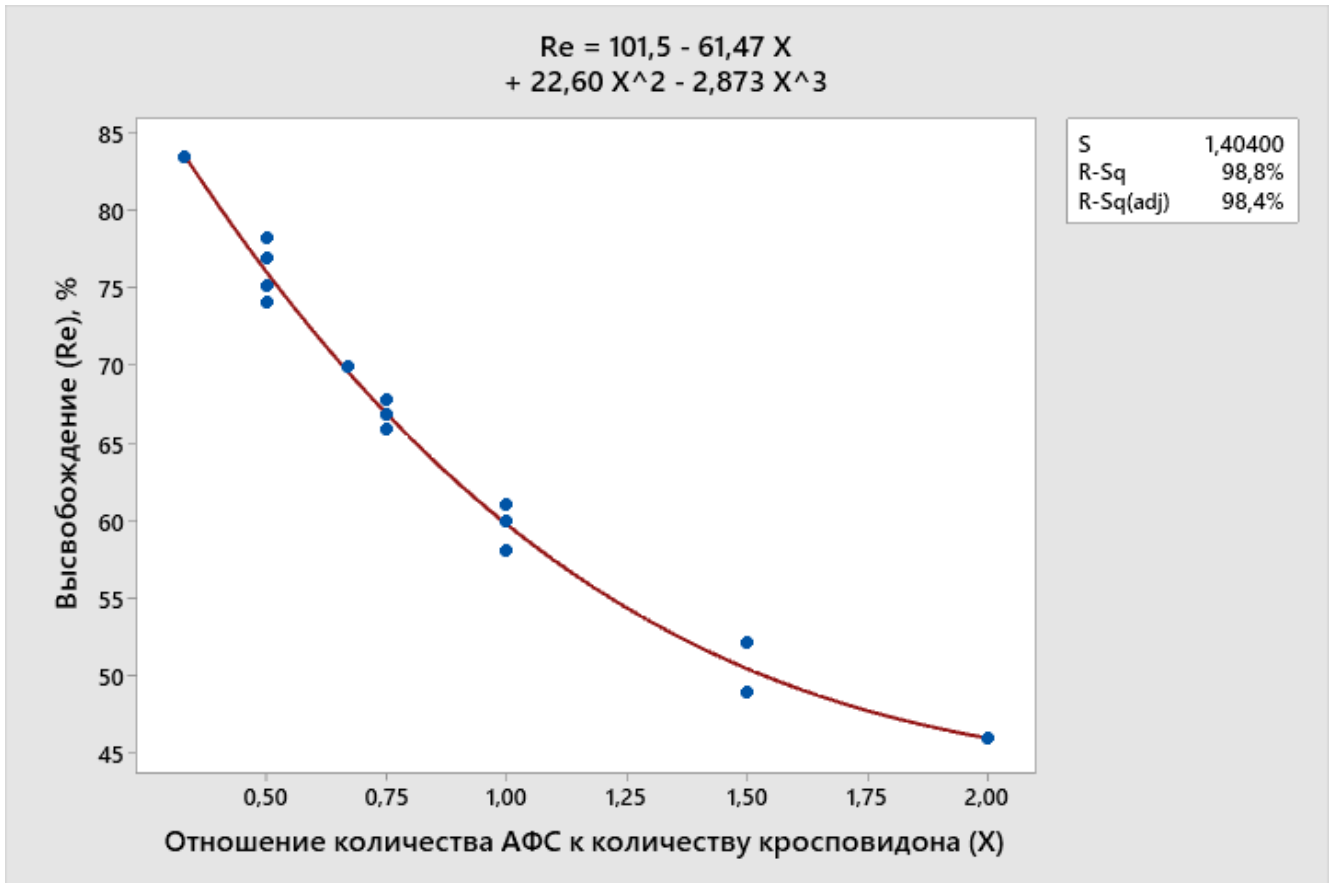


Рисунок 28 – Корреляция между отношением количества АФС к количеству кросповидона в ОДТ (X) и высвобождением ФТГХД

Для описания зависимости высвобождения АФС от изученных предикторов предложено следующее квадратное уравнение с коэффициентом детерминации 99,53 %:

Высвобождение ФТГХД = 52,19 - 3,15 × A + 4,986 × B - 0,33 × C + 0,077 × A² - 0,1197 × B² + 0,048 × C² - 0,0274 × A × B - 0,109 × A × C + 0,0495 × B × C;
соответствующий график поверхностного отклика представлен на рисунке 29.

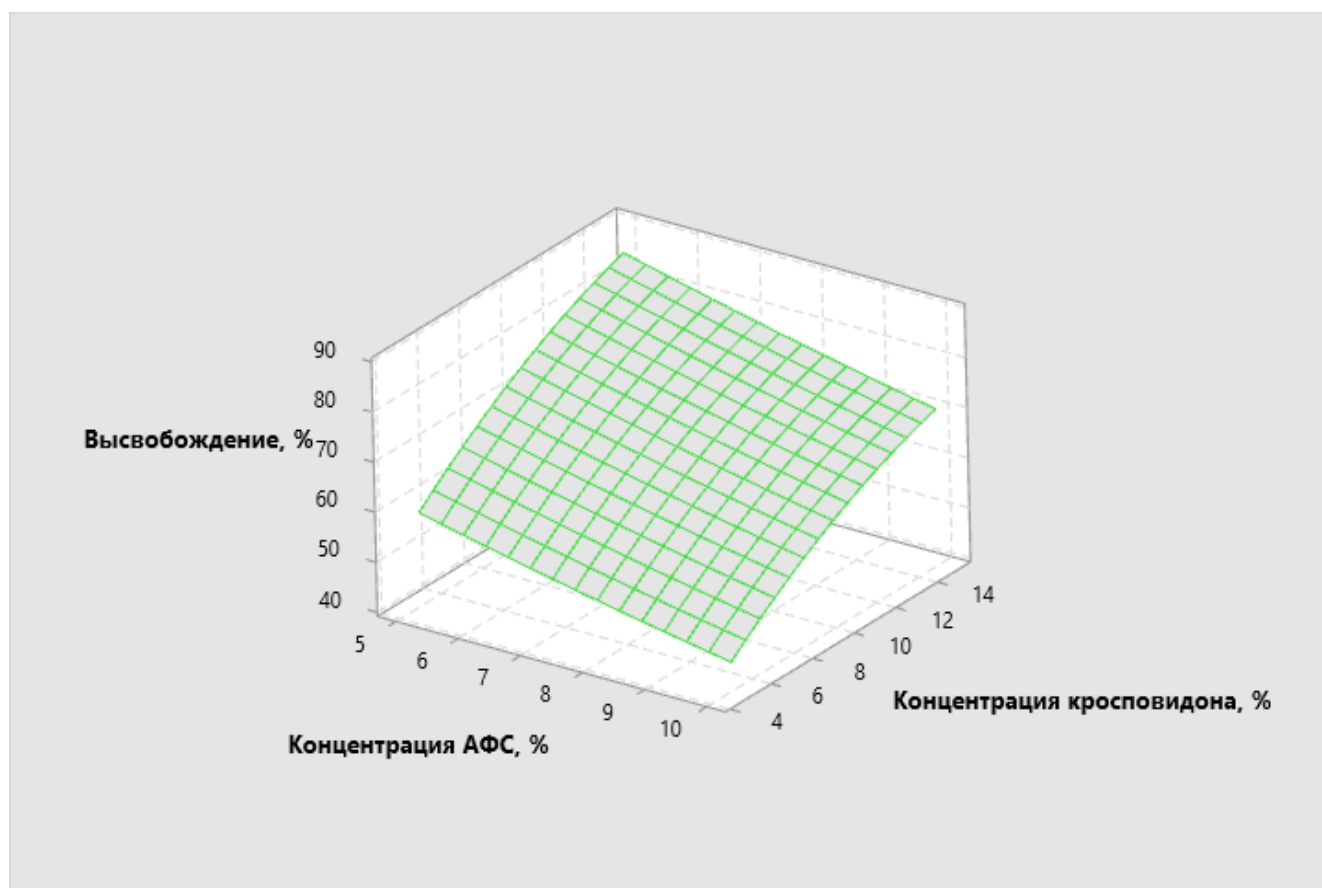


Рисунок 29 – График поверхностного отклика для высвобождения ФТГХД при давлении прессования равном 4 кН

5.4. Статистический анализ влияния независимых переменных на однородность дозирования

Оценка однородности дозирования была проведена в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Однородность дозирования». Согласно полученным результатам, во всех экспериментах однородность дозированных единиц, оцененная на 10 ОДТ, соответствовала заявленному требованию: $AV_{10} \leq 15$ (таблица 37).

Таблица 37 – Экспериментальные и предсказанные значения однородности единиц дозирования

Эксперимент №	Полученное значение	Рассчитанное значение	Отклонение
1	8,72	8,70	0,02
2	11,67	11,65	0,03
3	9,33	9,36	-0,03
4	12,37	12,39	-0,02

Продолжение Таблицы 37

5	9,00	8,96	0,04
6	11,99	11,95	0,04
7	8,81	8,85	-0,04
8	11,78	11,82	-0,04
9	7,69	7,75	-0,06
10	8,50	8,52	-0,02
11	7,72	7,70	0,02
12	8,39	8,33	0,06
13	7,99	8,00	-0,01
14	7,91	8,00	-0,09
15	8,10	8,00	0,10

При анализе полученных данных, было установлено, что концентрация АФС и кросповидона в ОДТ оказывают статистически значимое влияние на однородность содержания ФТГХД в изученных составах (рисунок 30).

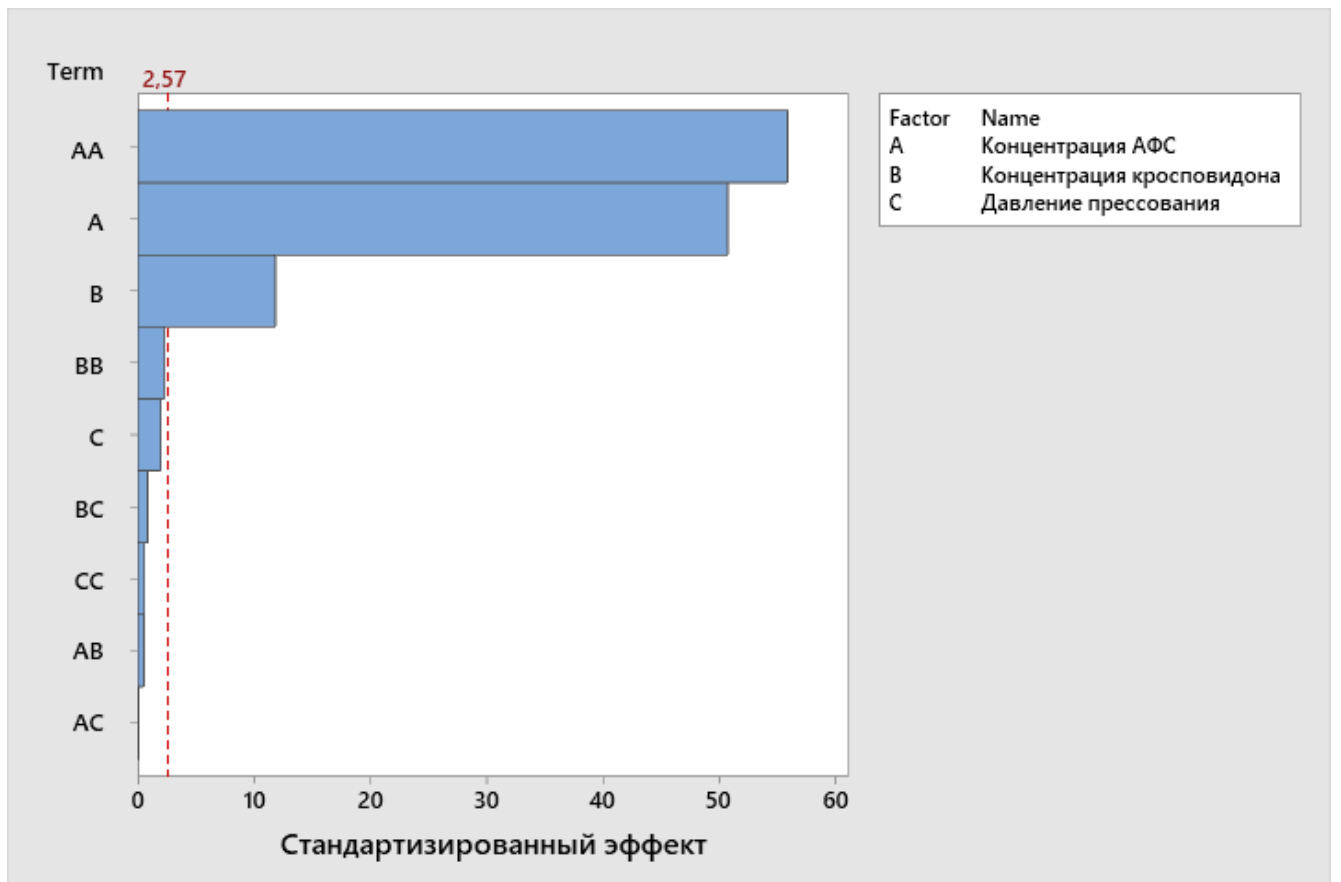


Рисунок 30 – Диаграмма Парето стандартизированных эффектов для однородности дозирования

С помощью множественного регрессионного анализа было получено следующее уравнение с R^2 равным 99,91 %, описывающее зависимость однородности дозированных единиц от изученных факторов:

$$AV = 24,99 - 5,228 \times A - 0,0108 \times B + 0,065 \times C + 0,3874 \times A^2 + 0,00405 \times B^2 - 0,0066 \times C^2 + 0,0018 \times A \times B - 0,001 \times A \times C - 0,0035 \times B \times C.$$

На основе полученного уравнения регрессии был построен график поверхностного отклика, отображающий зависимость величины AV от концентрации ФДГХД и кросповидона в ОДТ (рисунок 31).

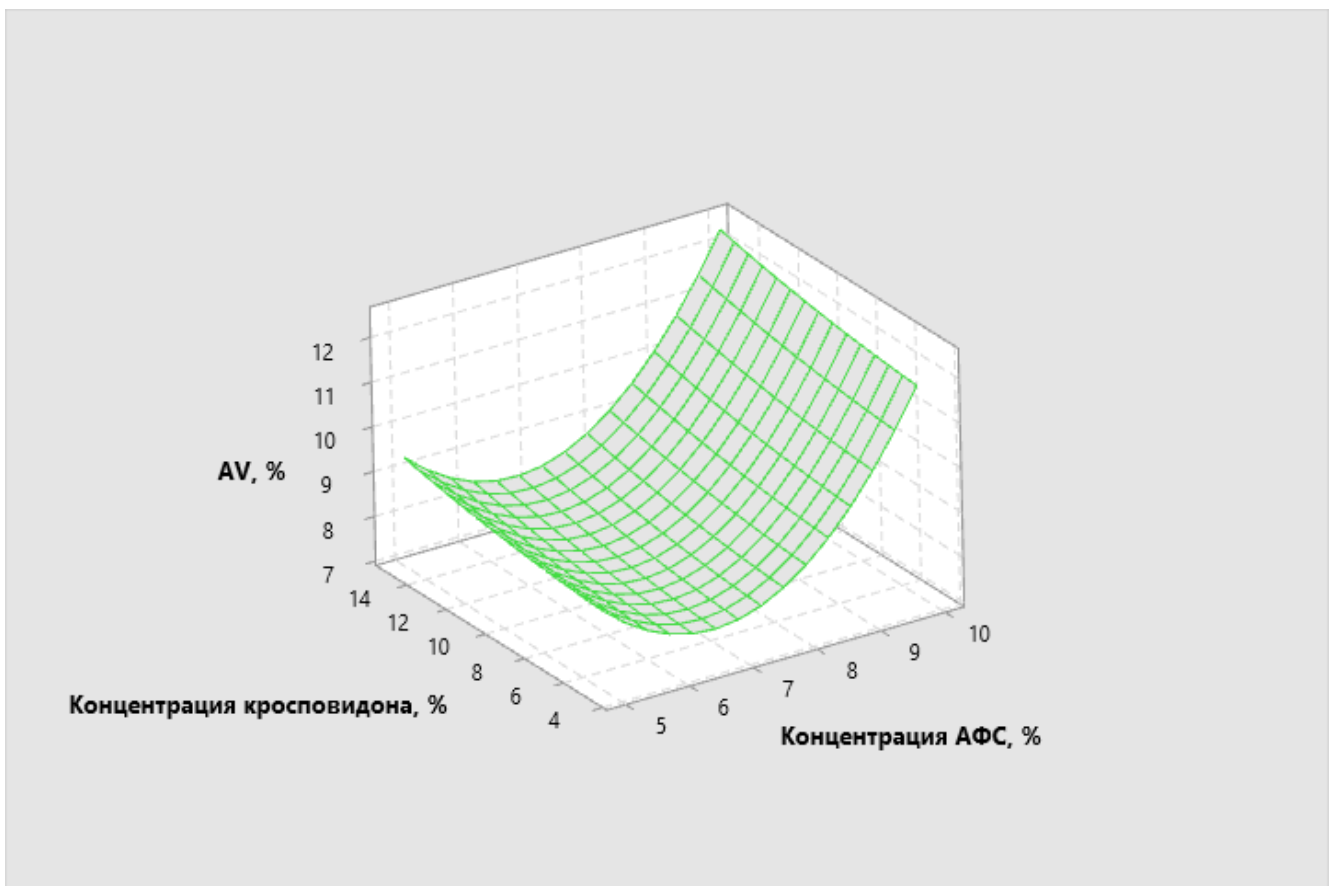


Рисунок 31 – График поверхностного отклика для первого критерия приемлемости AV при давлении прессования равном 4 кН

Согласно полученному уравнению регрессии и графику поверхностного отклика зависимость показателя AV от концентрации ФДГХД в составе ОДТ носит параболический характер: при уменьшении массы таблетки и

следовательно, увеличении доли АФС в ней, до 149 мг (до 6,7 % ФТГХД) однородность дозирования улучшается (происходит уменьшение первого показателя приемлемости), с последующим увеличением концентрации АФС – содержание действующего вещества в таблетке становится менее однородным, о чем свидетельствует рост показателя AV. Данное изменение отклика может быть объяснено наличием оптимума содержания АФС, при котором его количество достаточно для однородного распределения в смеси и при котором его физико-химические и технологические свойства не оказывают существенного влияния на свойства смеси. По-видимому, при увеличении содержания АФС в смеси более 6,7 %, неудовлетворительные реологические свойства и склонность мелкоизмельченного порошка к сегрегации приводят к увеличению неоднородности содержания действующего вещества в ОДТ. Рост концентрации кросповидона в составе оказывает синергичное действие, что также может быть связано с высоким содержанием мелких частиц в составе дезинтегранта, ухудшающих сыпучесть смеси для таблетирования (таблица 31).

5.5. Статистический анализ влияния независимых переменных на истираемость и прочность на раздавливание

Результаты оценки истираемости и прочности на раздавливание ОДТ и полученные на основе регрессионного анализа данные приведены в таблице 38.

Таблица 38 – Экспериментальные и предсказанные значения истираемости и прочности на раздавливание ОДТ

ОДТ №	Истираемость, %			Прочность на раздавливание, Н		
	ЭЗ*	ПЗ*	О*	ЭЗ*	ПЗ*	О*
1	0,56	0,57	-0,01	46,33	45,46	0,87
2	0,51	0,52	-0,01	41,00	43,13	-2,13
3	0,28	0,27	0,01	58,00	55,88	2,13
4	0,25	0,24	0,01	62,67	63,54	-0,87
5	0,83	0,80	0,03	20,00	21,71	-1,71
6	0,79	0,76	0,03	25,33	24,04	1,29
7	0,22	0,25	-0,03	80,00	81,29	-1,29

Продолжение Таблицы 38

8	0,18	0,21	-0,03	86,00	84,29	1,71
9	0,95	0,97	-0,02	16,00	15,17	0,83
10	0,51	0,55	-0,04	30,33	30,75	-0,42
11	0,33	0,29	0,04	75,67	75,25	0,42
12	0,13	0,12	0,02	89,67	90,50	-0,83
13	0,43	0,43	0,00	53,00	53,33	-0,33
14	0,44	0,43	0,01	52,33	53,33	-1,00
15	0,42	0,43	-0,01	54,67	53,33	1,34

*ЭЗ – экспериментальные значения, ПЗ – предсказанные значения, О – отклонения

Согласно полученным результатам, все изученные в 15 экспериментах ОДТ удовлетворяют требованиям ГФ РФ, ОФС «Истираемость таблеток» для прибора 2, при этом значение, полученное в 9 эксперименте близко к пограничному значению, определяющему брак – 1 %, а в 11 эксперименте, в котором был использован тот же состав но большее давление, было получено существенно более низкое значение истираемости. Наименьшая истираемость характерна для 12 эксперимента, в котором также как и в 11 было испытано максимальное давление прессования, однако при этом концентрация кросповидона была выше в 3 раза. Таким образом, для истираемости ОДТ существенное значение имеет давление прессование и концентрация дезинтегранта. При оценке прочности таблеток на раздавливание было установлено, что значения не соответствующие требованиям ГФ РФ, ОФС «Прочность таблеток на раздавливание» были получены в 5, 6 и 9 эксперименте, то есть в тех случаях, когда испытывались наименьшее значение давления прессования и минимальное или среднее значение концентрации кросповидона. Таким образом, критически важными для прочности таблеток и следовательно, их истираемости имеют два указанных предиктора, что подтверждается значениями р-критерия (таблица 39).

Таблица 39 – Статистическая обработка результатов оценки истираемости и прочности на раздавливание

Член уравнения	t-значение		p-значение		VIF	
	Fr	Str	Fr	Str	Fr	Str
Константа	19,23	41,85	0,00	0,00	-	-
A	-1,46	1,71	0,20	0,15	1,00	1,00
B	-10,77	9,88	0,00	0,00	1,00	1,00
C	-20,27	38,39	0,00	0,00	1,00	1,00
A ²	-0,12	-0,62	0,91	0,56	1,01	1,01
B ²	-1,36	-0,54	0,23	0,61	1,01	1,01
C ²	3,85	0,18	0,01	0,86	1,01	1,01
A × B	0,26	2,27	0,81	0,07	1,00	1,00
A × C	0,00	0,15	1,00	0,89	1,00	1,00
B × C	3,10	-0,07	0,03	0,94	1,00	1,00

Также стоит отметить, что для истираемости, в отличие от прочности для раздавливания, было обнаружено статистически значимое влияние взаимодействия двух вышеуказанных факторов ($B \times C < 0,05$). Уравнения регрессии с коэффициентом детерминации равным 99,11 % для истираемости и 99,68 % для прочности ОДТ имеют вид:

$$\text{Истираемость} = 1,787 - 0,006 \times A - 0,0345 \times B - 0,3537 \times C - 0,0004 \times A^2 - 0,0011 \times B^2 + 0,01937 \times C^2 + 0,0004 \times A \times B + 0,006 \times B \times C;$$

$$\text{Прочность на раздавливание} = -18,4 + 0,1 \times A + 0,57 \times B + 14,39 \times C - 0,113 \times A^2 - 0,025 \times B^2 + 0,052 \times C^2 + 0,2 \times A \times B + 0,033 \times A \times C - 0,008 \times B \times C.$$

Контурные графики для истираемости и прочности на раздавливание представлены на рисунке 32 и 33 соответственно.

Согласно полученным уравнениям регрессии и представленным контурным графикам с увеличением давления прессования и концентрации кросповидона увеличивается прочность таблеток и уменьшается их истираемость.

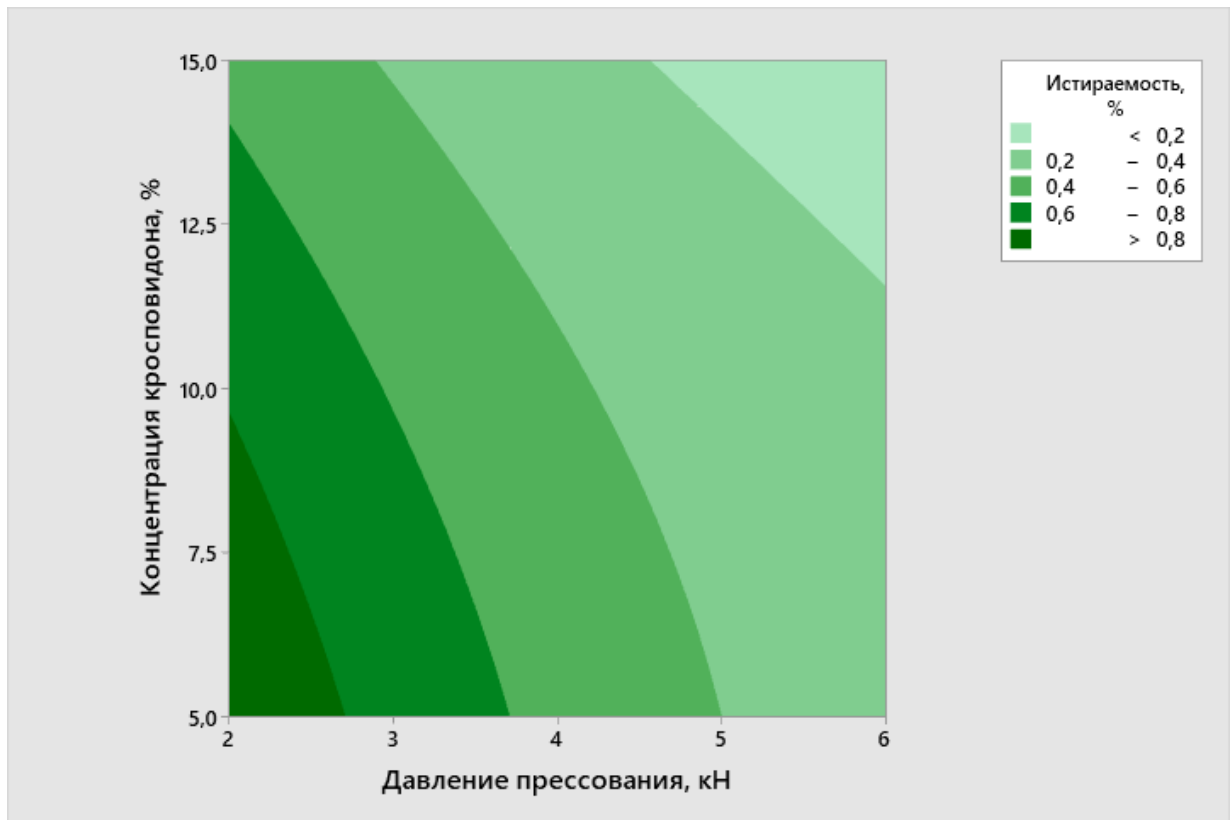


Рисунок 32 – Контурный график для истираемости ОДТ при концентрации АФС равной 7,5 %

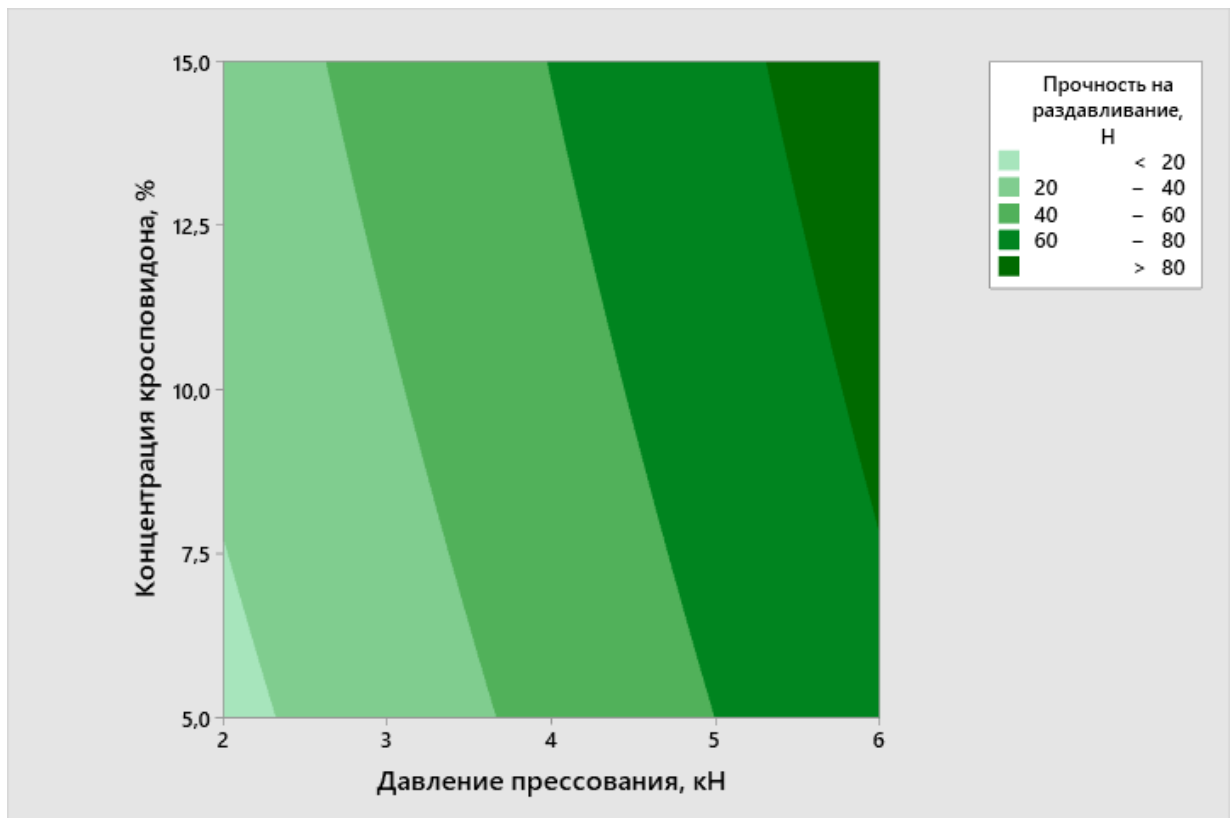


Рисунок 33 – Контурный график для прочности ОДТ на раздавливание при концентрации АФС равной 7,5 %

Для описания функционального взаимодействия зависимых переменных был проведен регрессионный анализ (рисунок 34), подтвердивший корреляцию между истираемостью и прочностью ОДТ на раздавливание.

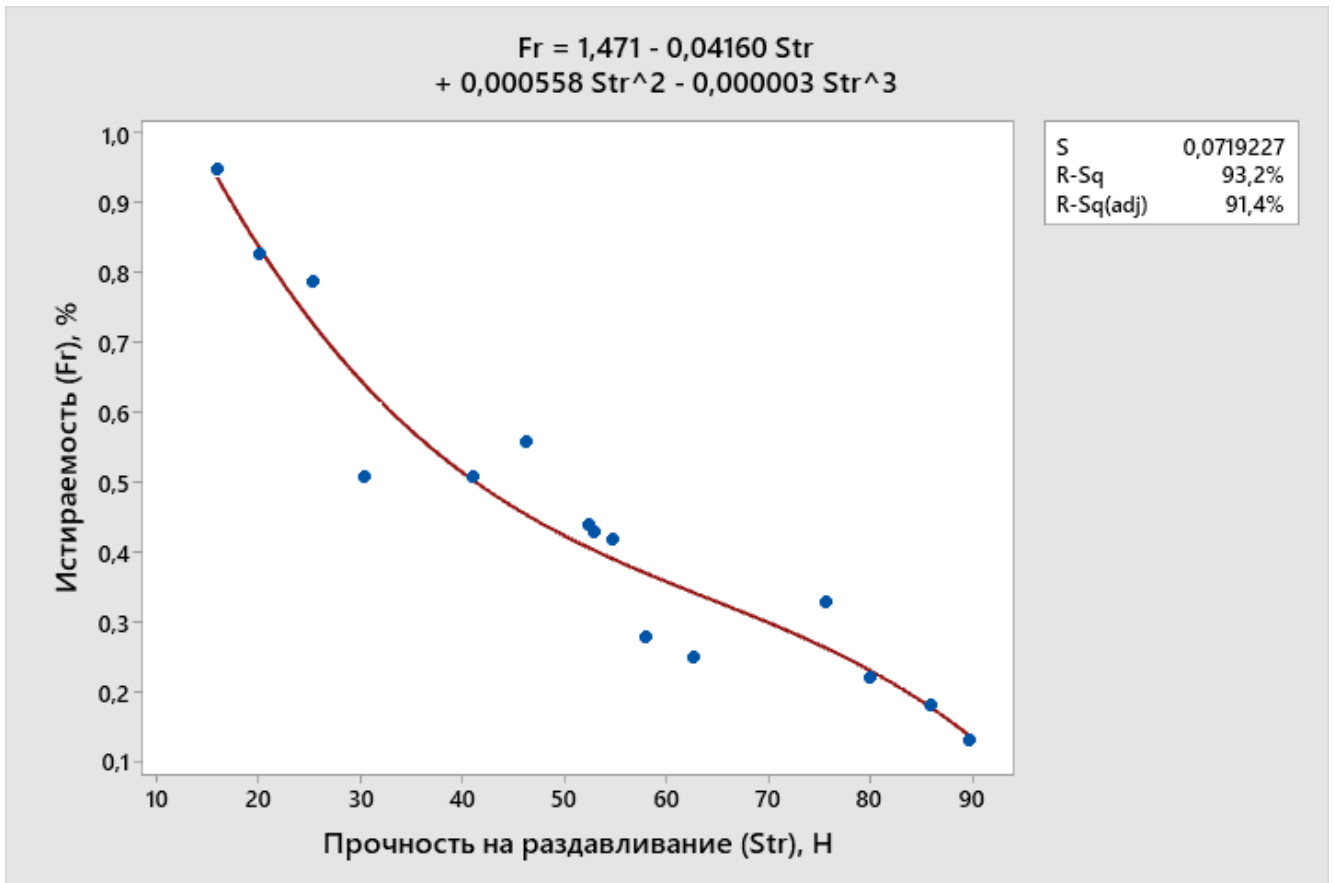


Рисунок 34 – Корреляция между прочностью таблеток на раздавливание и их истираемостью

5.6. Оптимизация концентрации АФС, концентрации кросповидона и давления прессования

Для определения оптимальных значений предикторов была использована функция желательности. Применение данного метода позволяет на основе заданных параметров конечного продукта (в данном случае КПК проектируемого ЛП) наименее затратно и наиболее быстро получить значения параметров, приводящих к продукту с заданными характеристиками. Выбранные параметры оптимизации заменяются на частную функцию желательности, в результате

расчета которой выбирается состав и технологические параметры процесса с оптимальными характеристиками. Указанный метод заключается в переводе значений различных параметров в единую систему исчисления, которая затем обрабатывается для получения общего коэффициента системы. Обобщенная желательность может быть определена как среднее геометрическое желательности каждого ответа. Шкала желательности находится в интервале от $d = 0$ (не желательно) до $d = 1$ (максимальная желательность). Ввиду неэквивалентности значимостей различных зависимых переменных, было проведено их ранжирование по десятибалльной шкале. Цели оптимизации и приоритизация выходных параметров представлены в таблице 40.

Таблица 40 – Целевое значение оптимизации и приоритизация зависимых переменных (КПК ЛП)

КПК ЛП	Re	DT	AV	Str	Fr	WT	WAR
Цель	max	min	min	max	min	min	min
Важность	10,0	8,6	7,1	5,7	4,3	2,9	1,4

*min – минимум, max – максимум

Показателю качества «Растворение» была присвоена наивысшая значимость, поскольку для него характерен наибольший риск брака и изучаемая АФС относится ко II классу БКС. Для распадаемости также было отмечено, но в меньшем количестве экспериментов, несоответствие заявленным требованиям, в связи с чем данному КПК проектируемого ЛП был присвоен второй уровень значимости. С учетом того, что ОДТ получают методом прямого прессования, в котором наибольшее значение уделяется однородности распределения действующего вещества в смеси, третий уровень значимости был присвоен показателю «Однородность дозирования». Далее следуют два оставшихся фармакопейных показателя: прочность таблеток на раздавливание и истираемость, при этом первому из них присвоен более высокий ранг значимости на основе оценки риска несоответствия требованиям соответствующей ОФС ГФ РФ. Последние два места занимают нефармакопейные показатели, для которых отсутствуют четкие требования. Время смачивания рассматривается как более

приоритетная характеристика ОДТ, поскольку от нее зависит более критический показатель – распадаемость.

Результаты оптимизации с обобщенной желательностью $D = 0,77$ представлены в таблице 41, соответствующие рассчитанные значения откликов приведены в таблице 42.

Таблица 41 – Оптимизированный состав и давление прессования ОДТ

Компонент	Доля, %	Масса, мг
АФС	6,3131	10,0000
Кросповидон	15,0000	23,7601
Маннитол	77,6869	123,0567
Магния стеарат	1,0000	1,5840
Масса ОДТ	158,4000 мг	
Давление прессования	4,4647 кН	

Таблица 42 – Подобранные значения КПК проектируемого ЛП в статистической обработке

КПК ЛП	Значение	Стандартная ошибка аппроксимации	Доверительный интервал (95 % CI)	Интервал прогнозирования (95 % PI)
Str	65,37	1,46	(61,62; 69,12)	(58,57; 72,17)
Fr	0,22	0,03	(0,15; 0,28)	(0,10; 0,34)
AV	8,25	0,06	(8,11; 8,40)	(8,00; 8,51)
Re	80,36	0,84	(78,19; 82,53)	(76,43; 84,29)
WAR	135,23	0,65	(133,56; 136,90)	(132,20; 138,26)
DT	16,58	0,41	(15,63; 17,54)	(14,74; 18,43)
WT	22,89	0,76	(20,95; 24,84)	(19,36; 26,42)

Графики оптимизации представлены на рисунке 35.

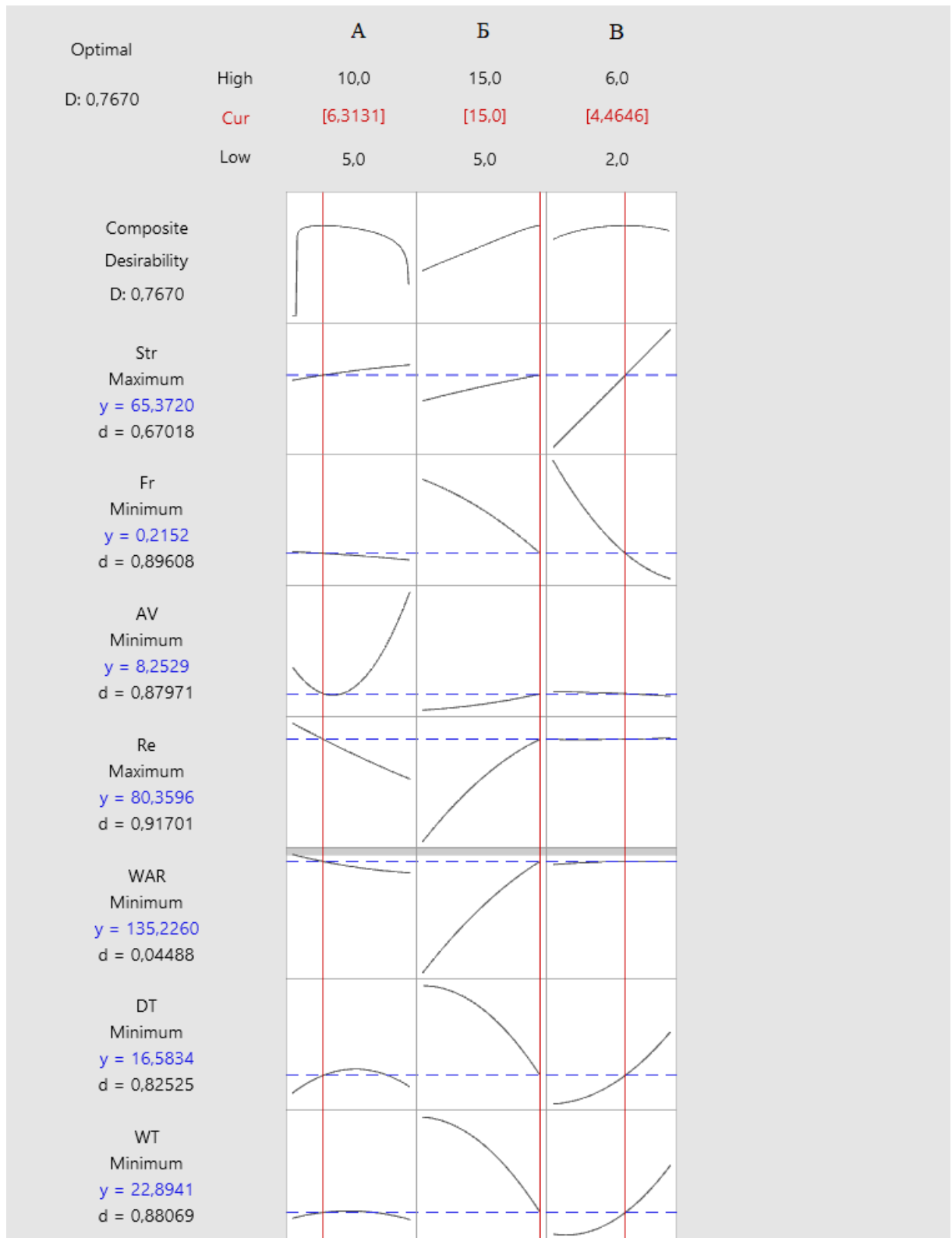


Рисунок 35 – Графики желательности для концентрации АФС (А), кросповидона (Б) и давления прессования (В)

Полученные значения стандартной ошибки и широта доверительного интервала говорят о хорошей пригодности выбранных регрессионных моделей.

Подобранные оптимальные значения зависимых переменных соответствуют заявленным требованиям. Минимальное значение частной желательности для степени влагопоглощения можно считать не критичным, поскольку соответствующий объем жидкости, абсорбируемый ОДТ (0,2 мл) составляет менее среднего количества слюны, присутствующего в ротовой полости в норме [70]. Небольшие значения частных желательностей для показателей «Истираемость таблеток» и «Прочность таблеток на раздавливание» также можно считать не критичными, поскольку рассчитанные прочность ОДТ и истираемость удовлетворяют требованиям соответствующих ОФС ГФ РФ.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

С учетом результатов оценки ОДТ, полученных в 15 экспериментах в соответствии с планами Бокса-Бенкена, были установлены и описаны зависимости обоснованных с учетом оценки рисков КПК проектируемого ЛП от КПКМ – концентрации АФС и кросповидона и от КПП – давления прессования. Было установлено, что на время дезинтеграции и смачивания статистически значимое влияние оказывают все три предиктора: с ростом давления прессования увеличивается продолжительность смачивания и распада ОДТ, противоположным эффектом обладает процентное содержание дезинтегранта, а влияние концентрации АФС и связанной с ней массы таблетки имеет параболический вид с минимальным временем смачивания и дезинтеграции при содержании ФТГХД около 7,5 % в смеси, или что соответствует массе таблетки около 133,3 мг. Также в процессе анализа была подтверждена линейная зависимость распадаемости от времени смачивания ОДТ.

На степень водопоглощения существенное влияние оказывает концентрация кросповидона, с увеличением которой растет количество абсорбируемой влаги, также концентрация АФС в ОДТ оказывает меньшее, но обратное по эффекту влияние на степень водопоглощения, обусловленное обратно пропорциональной связью содержания ФТГХД в таблетке с массой наполнителя.

Степень высвобождения ФТГХД пропорциональна содержанию дезинтегранта в ОДТ, при этом увеличение концентрации АФС в смеси приводит к снижению результатов оценки теста «Растворение», что было объяснено зависимостью данного показателя от отношения количества дезинтегранта к количеству действующего вещества в ОДТ, рост которого приводит к увеличению высвобождения ФТГХД, по-видимому, благодаря солубилизирующему действию кросповидона.

Ввиду физико-химических и технологических характеристик АФС и ВВ, однородность дозирования, оцененная по первому показателю приемлемости, оказалась в параболической зависимости от концентрации АФС, при которой AV минимально при содержании ФТГХД около 6,7 %, а также в обратной зависимости от концентрации кросповидона в смеси.

Изменение прочности на раздавливание и связанной с ней истираемости были в большей степени обусловлены вариацией давления прессования и концентрацией кросповидона в смеси, увеличение значения которых приводили к уменьшению хрупкости и истираемости ОДТ. Для описания корреляции между истираемостью и прочностью на раздавливание была предложена кубическая функция.

На основе функции желательности были определены оптимальные значения концентрации АФС, и следовательно масса таблетки, концентрации кросповидона и давления прессования, которые составили 6,31 % (масса ОДТ – 158,40 мг), 15,00 % и 4,47 кН соответственно.

ГЛАВА 6. ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ЛФ И ПРОЦЕССА ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДИЗАЙНА БОКСА-УИЛСОНА И МЕТОДА ПОВЕРХНОСТНОГО ОТКЛИКА

В соответствии с проведенной ранее оценкой рисков для детального изучения влияния концентрации антифрикционного агента – магния стеарата и продолжительности его смешения с остальными компонентами ОДТ – лубрикации на КПК проектируемого ЛП, а также для оптимизации указанных параметров методом поверхностного отклика были применены планы Бокса-Уилсона, относящиеся к центральным композиционным рототабельным планам, позволяющим получить полином второго порядка при меньшем по сравнению с полным факторным экспериментом количеством поставленных опытов и при этом с достаточно высокой достоверностью. Адекватность получаемой модели объясняется включением реплик в центре факторного пространства. Также данный план отличается от полного факторного эксперимента включением в факторное пространство дополнительных равноудаленных и превышающих в безразмерных величинах нижний и верхний уровень предикторов «звездных точек» (star points). Значение в безразмерных величинах звездных точек, так называемое звездное плечо (α), и количество опытов в центре плана (m_0) зависят от количества факторов и для двух независимых переменных составляют: $\alpha = 1,41421$ и $m_0 = 5$ единиц соответственно [29]. Таким образом, матрица для двухфакторного эксперимента, в котором фактором А является концентрация магния стеарата, фактором В – продолжительность лубрикации и значения уровней предикторов в соответствии с планами Бокса-Уилсона представлены в таблице 43.

Таблица 43 – Матрица эксперимента в соответствии с планами Бокса-Уилсона

Эксперимент №	Уровни		Значения уровней	
	А	В	Концентрация магния стеарата, %	Продолжительность лубликации, мин
1	-1,0000	-1,0000	0,5000	5,0000
2	1,0000	-1,0000	1,5000	5,0000
3	-1,0000	1,0000	0,5000	15,0000
4	1,0000	1,0000	1,5000	15,0000
5	-1,4142	0,0000	0,2929	10,0000
6	1,4142	0,0000	1,7071	10,0000
7	0,0000	-1,4142	1,0000	2,9289
8	0,0000	1,4142	1,0000	17,0711
9	0,0000	0,0000	1,0000	10,0000
10	0,0000	0,0000	1,0000	10,0000
11	0,0000	0,0000	1,0000	10,0000
12	0,0000	0,0000	1,0000	10,0000
13	0,0000	0,0000	1,0000	10,0000

6.1. Статистический анализ влияния независимых переменных на время дезинтеграции и смачивания

Результаты оценки распадаемости и времени смачивания ОДТ, полученных в 13 опытах в соответствии с представленной выше матрицей эксперимента, приведены в таблице 44.

Таблица 44 – Экспериментальные и предсказанные значения распадаемости и времени смачивания

ОДТ №	Распадаемость, с			Время смачивания, с		
	ЭЗ*	ПЗ*	О*	ЭЗ*	ПЗ*	О*
1	11,99	12,25	-0,26	17,41	17,61	-0,20
2	16,02	16,39	-0,37	25,19	25,93	-0,74
3	12,40	12,82	-0,42	17,52	18,40	-0,88
4	16,37	16,91	-0,54	26,15	27,57	-1,42
5	11,98	11,67	0,31	17,60	17,17	0,43
6	17,97	17,49	0,48	30,73	29,54	1,19
7	14,50	14,22	0,28	20,88	20,55	0,33
8	15,51	14,99	0,52	23,55	22,26	1,29
9	15,19	15,14	0,05	22,88	21,01	1,87
10	15,28	15,14	0,14	22,18	21,01	1,17

Продолжение Таблицы 44

11	15,12	15,14	-0,02	19,84	21,01	-1,17
12	14,91	15,14	-0,23	19,72	21,01	-1,29
13	15,20	15,14	0,06	20,41	21,01	-0,60

*ЭЗ – экспериментальные значения, ПЗ – предсказанные значения, О – отклонения

Согласно представленным результатам во всех опытах были получены значения распадаемости, удовлетворяющие заявленным требованиям, однако, не укладывающиеся в рассчитанные в опытах, проведенных согласно планам Бокса-Бенкена, интервалы (таблица 42), а разброс полученных значений КПК существенен (для первых четырех опытов RSD для распадаемости составляет 16,34 %, для времени смачивания – 22,04 %), в связи с чем был проведен корреляционный анализ с целью выявления факторов, оказывающих статистически значимое влияние на данные КПК проектируемого ЛП (таблица 45), согласно которому только концентрация антифрикционного агента обуславливает изменение времени дезинтеграции и смачивания.

Таблица 45 – Статистическая обработка результатов оценки распадаемости и времени смачивания

Член уравнения	t-значение		p-значение		VIF	
	DT	WT	DT	WT	DT	WT
Константа	74,99	32,06	0,00	0,00	-	-
A	12,90	8,44	0,00	0,00	1,00	1,00
B	1,71	1,17	0,13	0,28	1,00	1,00
A ²	-1,64	2,11	0,14	0,07	1,02	1,02
B ²	-1,56	0,36	0,16	0,73	1,02	1,02
A × B	-0,07	0,29	0,95	0,78	1,00	1,00

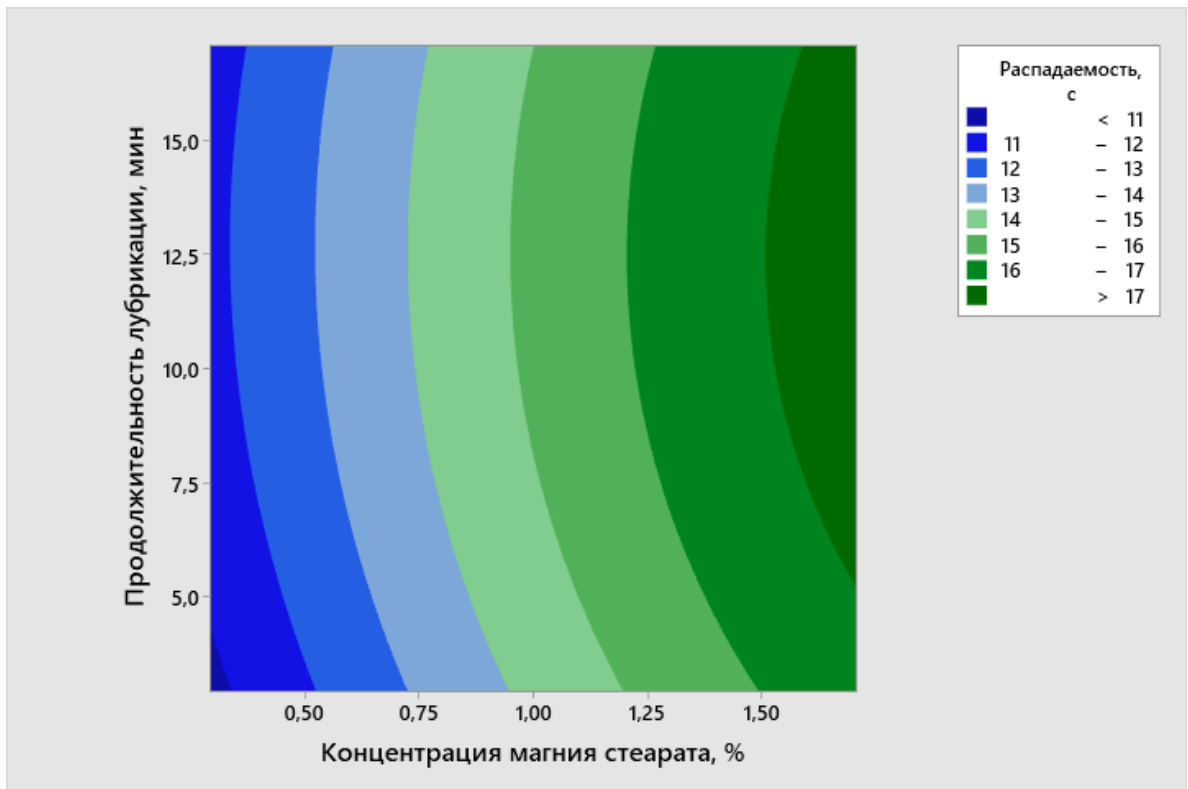


Рисунок 36 – Контурный график, отображающий зависимость времени дезинтеграции от концентрации магния стеарата

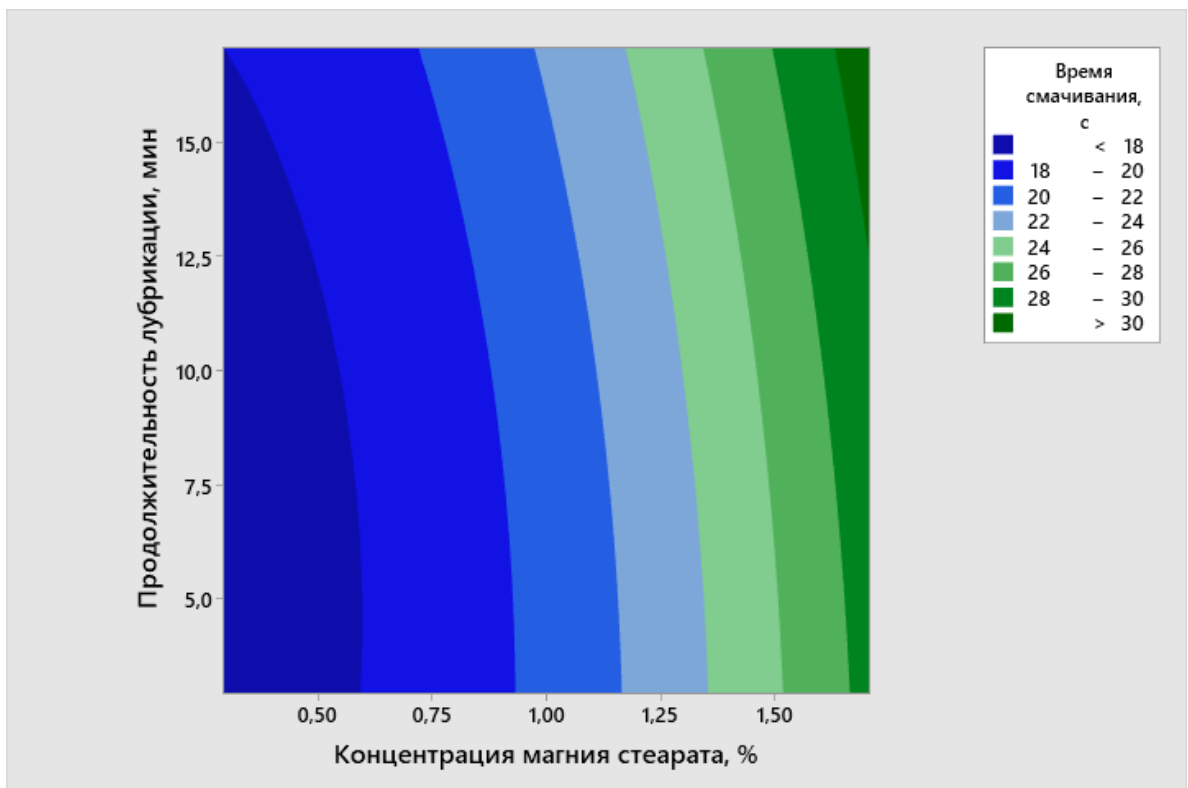


Рисунок 37 – Контурный график, отображающий зависимость времени смачивания от концентрации магния стеарата

Для описания зависимости распадаемости и времени смачивания ОДТ от независимых переменных предложены следующие полиномы второго порядка, полученные из множественного регрессионного анализа методом наилучшего соответствия с $R^2 = 96,13$ и $91,69$ % соответственно:

$$\text{Распадаемость} = 8,23 + 6,43 \times A + 0,274 \times B - 1,125 \times A^2 - 0,01065 \times B^2 - 0,006 \times A \times B;$$

$$\text{Время смачивания} = 17,39 - 1,50 \times A - 0,123 \times B + 4,7 \times A^2 + 0,0080 \times B^2 + 0,085 \times A \times B;$$

соответствующие контурные графики приведены на рисунке 36 и 37.

Согласно полученным результатам с увеличением содержания антифрикционного агента в таблетлируемой смеси наблюдается увеличение времени смачивания и времени дезинтеграции, при увеличении продолжительности лубрикации наблюдалось статистически незначимое параболическое увеличение данных зависимых переменных. При этом аналогично результатам опытов, проведенных в соответствии с планами Бокса-Бенкена, наблюдается корреляция между временем смачивания и распадаемостью, значение R^2 для линейной регрессии составило $83,19$ %.

6.2. Статистический анализ влияния независимых переменных на степень водопоглощения, высвобождение ФТГХД и однородность дозированных единиц

При оценке полученных ОДТ по таким КПК, как степень водопоглощения, высвобождение АФС и однородность дозирования была отмечена низкая вариабельность полученных откликов, укладывающаяся в рассчитанные ранее интервалы для оптимизированного методом Бокса-Бенкена состава (таблица 42), а относительное стандартное отклонение всех полученных результатов составляет менее 5 % (таблица 46).

Таблица 46 – Результаты оценки степени водопоглощения, высвобождения и однородности дозирования ОДТ, полученных в первых четырех экспериментах

Опыт №	КПК проектируемого ЛП		
	WAR, %	Re, %	AV, %
1	136,99	82,50	8,31
2	134,02	82,00	8,19
3	135,03	83,10	8,22
4	132,97	82,65	8,12
Среднее	134,50 ± 3,59	82,58 ± 1,36	8,21 ± 0,13
RSD, %	4,21	1,96	0,96

При рассмотрении изменений значений откликов при вариации содержания магния стеарата для двух продолжительностей лубрикации по углам наклона соответствующих прямых, можно отметить отсутствие взаимодействия факторов в случае влияния предикторов на высвобождение ФТГХД и однородности дозирования или его незначительность в случае степени водопоглощения (рисунок 38).

С учетом полученных выводов, оценка концентрации магния стеарата и продолжительности лубрикации в остальных опытах не проводилась, и влияние данных факторов на КПК проектируемого ЛП не учитывалось при оптимизации параметров лубрикации.

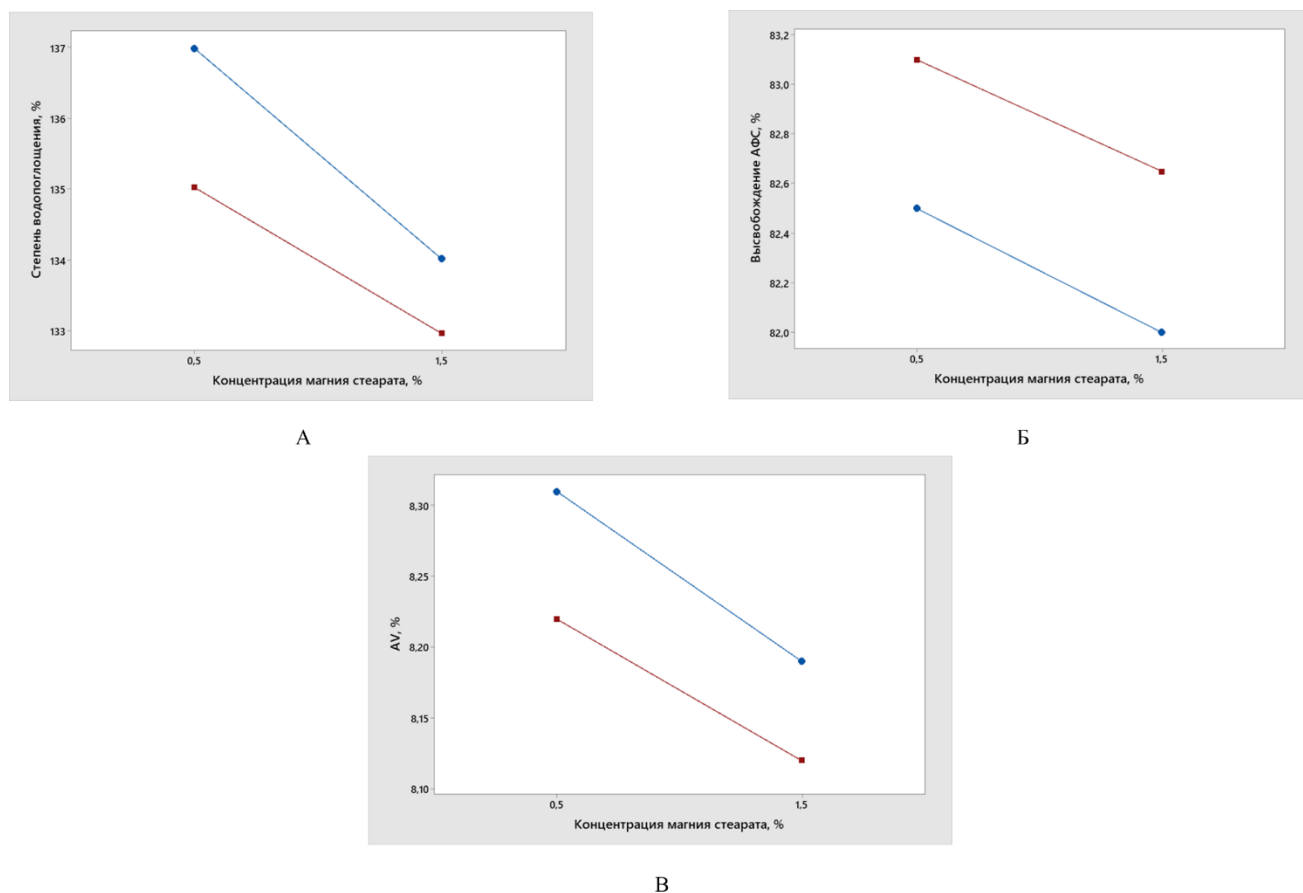


Рисунок 38 – Влияние взаимодействий независимых переменных на WAR (А), Re (Б) и AV (В), синим цветом выделены значения, полученные при 5 минутах лубрикации, красным – при 15 минут

6.3. Статистический анализ влияния независимых переменных на истираемость и прочность таблеток на раздавливание

Результаты изучения прочности на раздавливание полученных ОДТ и их истираемости, а также соответствующие подобранные на основе регрессии значения приведены в таблице 47.

Таблица 47 – Экспериментальные и предсказанные значения истираемости и прочности на раздавливание ОДТ

ОДТ №	Истираемость, %			Прочность на раздавливание, Н		
	ЭЗ*	ПЗ*	О*	ЭЗ*	ПЗ*	О*
1	0,18	0,17	0,01	71,33	70,16	1,17
2	0,27	0,29	-0,02	61,33	61,08	0,25
3	0,20	0,18	0,02	68,67	67,93	0,74
4	0,31	0,31	0,00	59,00	59,17	-0,17

Продолжение Таблицы 47

5	0,15	0,17	-0,02	70,00	71,14	-1,14
6	0,36	0,35	0,01	58,67	58,52	0,15
7	0,22	0,21	0,01	65,00	65,80	-0,80
8	0,21	0,23	-0,02	62,67	62,87	-0,20
9	0,18	0,18	0,00	64,00	63,20	0,80
10	0,17	0,18	-0,01	62,33	63,20	-0,87
11	0,18	0,18	0,00	63,67	63,20	0,47
12	0,19	0,18	0,01	63,00	63,20	-0,20
13	0,17	0,18	-0,01	63,00	63,20	-0,20

*ЭЗ – экспериментальные значения, ПЗ – предсказанные значения, О – отклонения

Согласно полученным результатам изученные в 13 опытах ОДТ соответствуют заявленным требованиям по истираемости и прочности на раздавливание, при этом существенный разброс полученных значений говорит о значимости влияния изучаемых факторов (для первых четырех экспериментов RSD для истираемости составляет 25,23 %, для прочности на раздавливание – 9,00 %). Результаты оценки статистической значимости вкладов факторов в вариабельность истираемости и прочности ОДТ на раздавливание приведены в таблице 48.

Таблица 48 – Статистическая обработка результатов оценки истираемости и прочности таблеток на раздавливание

Член уравнения	t-значение		p-значение		VIF	
	Fr	Str	Fr	Str	Fr	Str
Константа	22,49	156,48	0,00	0,00	-	-
A	9,93	-13,97	0,00	0,00	1,00	1,00
B	0,92	-3,24	0,39	0,01	1,00	1,00
A ²	5,92	2,39	0,00	0,05	1,02	1,02
B ²	2,94	1,66	0,02	0,14	1,02	1,02
A × B	0,56	0,18	0,59	0,86	1,00	1,00

Уравнение регрессии для истираемости таблеток имеет вид:

$$\text{Истираемость} = 0,3003 - 0,2138 \times A - 0,1665 \times B + 0,1590 \times A^2 + 0,00079 \times B^2 + 0,002 \times A \times B;$$

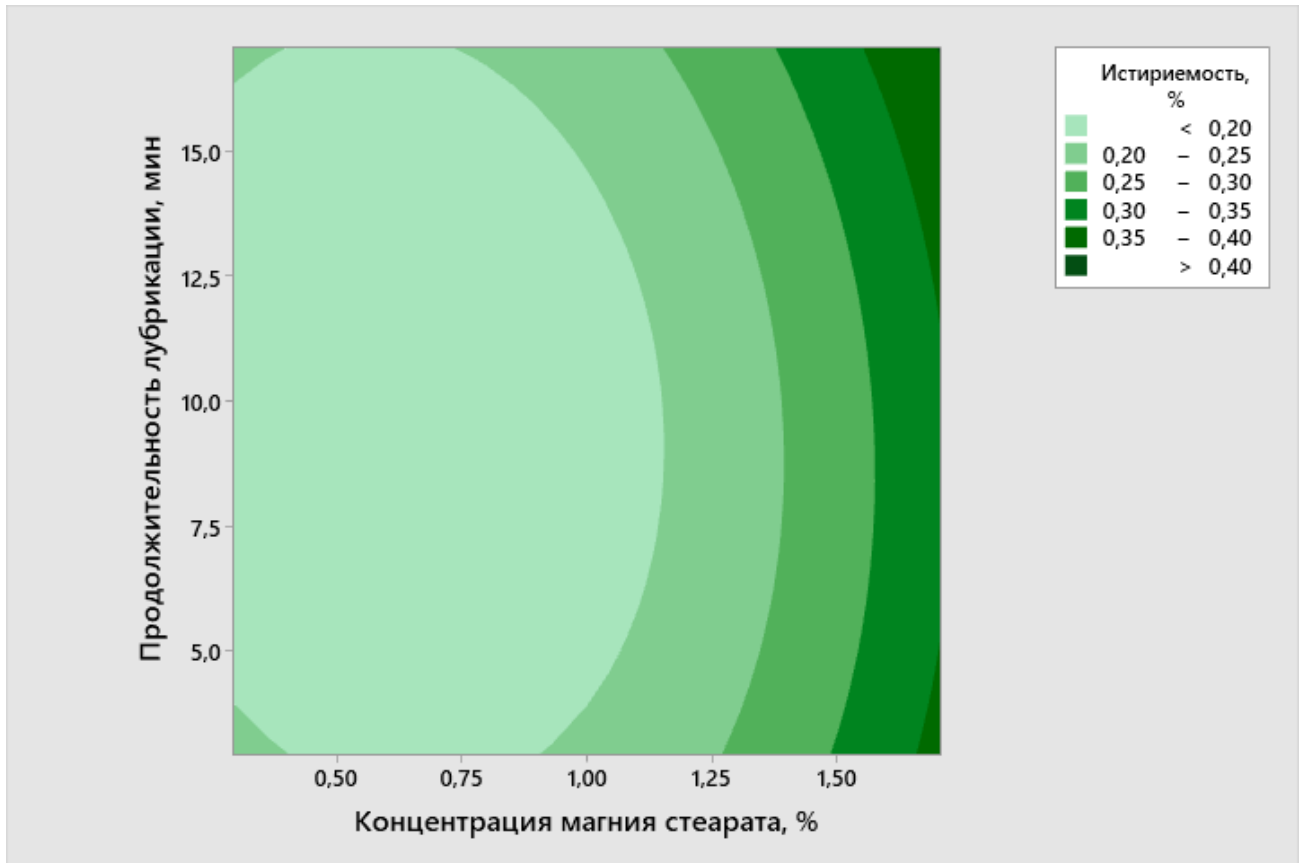


Рисунок 39 – Контурный график, отображающий зависимость истираемости от концентрации магния стеарата и продолжительности лубрикации

Уравнение регрессии для прочности ОДТ на раздавливание имеет вид:

$$\text{Прочность на раздавливание} = 80,06 - 15,79 \times A - 0,694 \times B + 3,27 \times A^2 + 0,0227 \times B^2 + 0,033 \times A \times B;$$

соответствующие контурные графики представлены на рисунках 39 и 40.

При анализе полученных результатов можно сделать вывод, что на истираемость оказывают статистически значимое влияние оба изучаемых фактора, при этом влияние концентрации магния стеарата более существенно – с ростом содержания антифрикционного агента в ОДТ увеличивается их истираемость, что может быть объяснено препятствием к склеиванию частиц, создаваемым гидрофобным магния стеаратом. С увеличением продолжительности лубрикации также происходит незначительное увеличение истираемости ОДТ, что может быть связано с проникновением антифрикционного агента со временем в более глубокие слои смеси и препятствованием их прессованию.

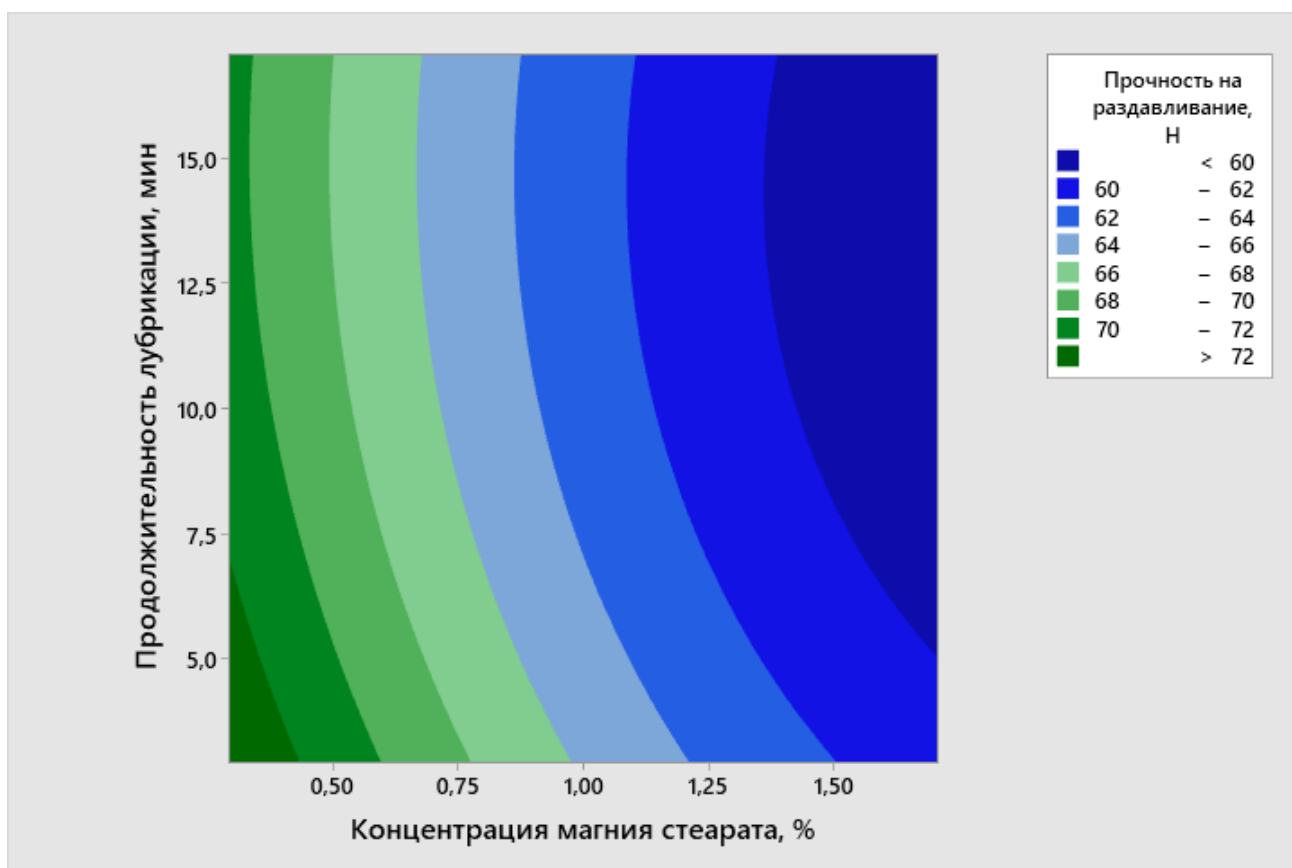


Рисунок 40 – Контурный график, отображающий зависимость прочности таблеток на раздавливание от концентрации магния стеарата и продолжительности лубрикации

Такие же результаты были получены при анализе влияния предикторов на прочность таблеток на раздавливание. Аналогично результатам, полученным в опытах, проведенным в соответствии с планами Бокса-Бенкена, для обсуждаемых результатов откликов была подтверждена корреляция между истираемостью и прочностью таблеток на раздавливание, при этом для описания зависимости между выходными данными предложен полином третьего порядка с соответствующим коэффициентом детерминации равным 84,6 %.

6.4. Статистический анализ влияния независимых переменных на силу выталкивания

В рамках оптимизации состава и процесса получения ОДТ были таблетированы смеси с различным составом и полученные по отличным

технологическим параметрам. При наработке серий проектируемого ЛП наблюдался рост силы выталкивания ОДТ, что было связано с постепенным налипанием состава на поверхностях пуансона и увеличением адгезивных сил, что в конечном итоге приводило к небольшой шероховатости поверхности получаемых таблеток (что было ярко выражено для таблеток, полученных в 1, 3 и 5 экспериментах) и могло стать причиной аварийной остановки таблетпрессы. Наблюдаемая адгезия смесей к пуансонам может быть объяснена недостаточным содержанием антифрикционного агента в смеси, в связи с чем была проведена оценка силы выталкивания 13 изученных составов, результаты которой приведены в таблице 49.

Таблица 49 – Экспериментальные и предсказанные значения силы выталкивания

Эксперимент №	Полученное значение, Н	Рассчитанное значение, Н	Отклонение, Н
1	424,00	394,75	29,25
2	71,00	62,37	8,63
3	397,00	354,30	42,70
4	66,00	43,92	22,08
5	481,00	521,25	-40,25
6	55,67	66,75	-11,08
7	138,33	154,49	-16,16
8	77,67	112,84	-35,17
9	119,00	120,33	-1,33
10	117,00	120,33	-3,33
11	120,00	120,33	-0,33
12	123,00	120,33	2,67
13	122,67	120,33	2,34

Согласно полученным результатам, сила выталкивания ОДТ изменяется в пределах от 55,67 до 424 Н и сильно зависит от параметров лубрикации (для первых четырех экспериментов RSD составляет 82,58 %), о чем также говорит представленная на рисунке 41 диаграмма Парето.

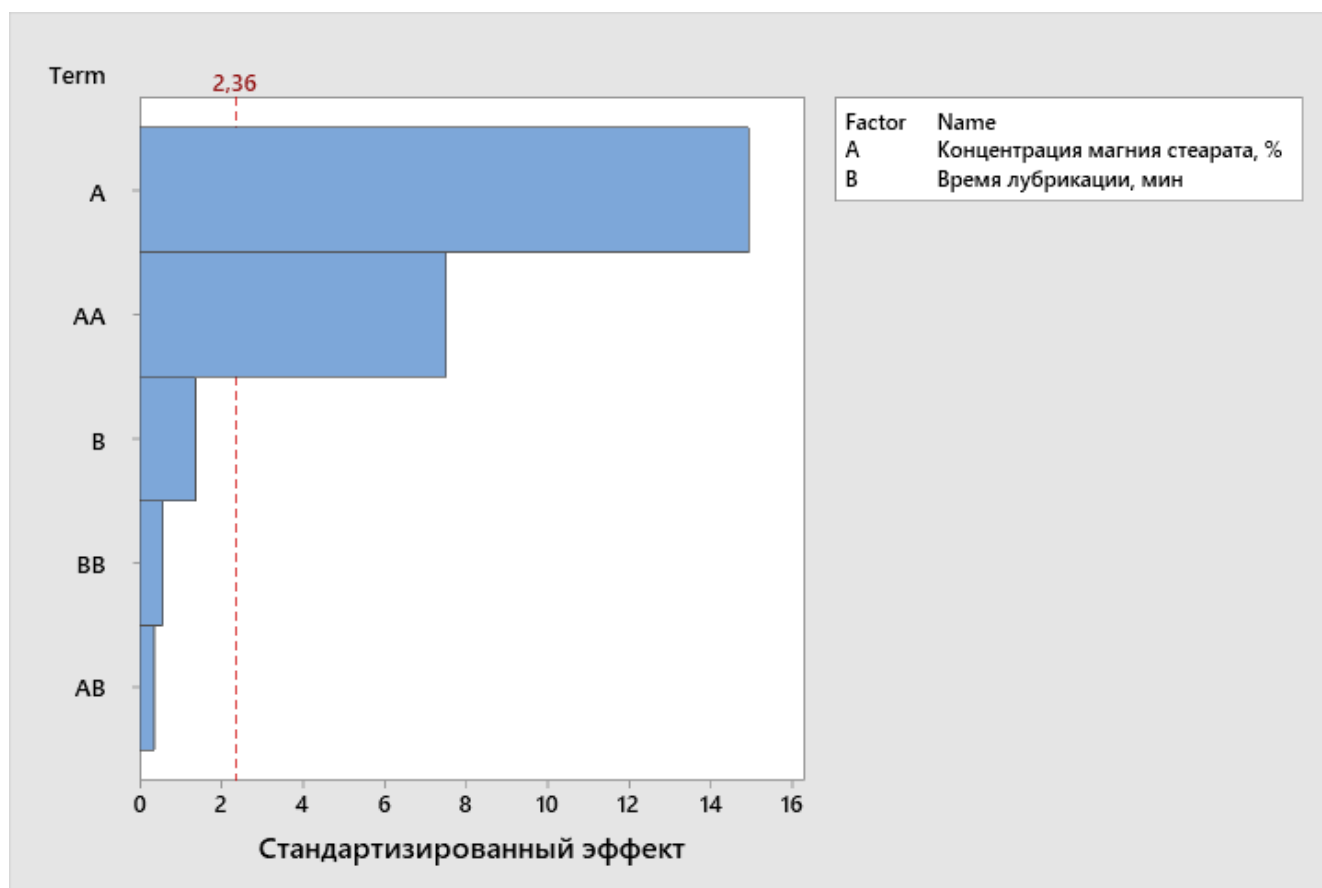


Рисунок 41 – Диаграмма Парето стандартизированных эффектов для силы выталкивания

Полученное уравнение регрессии, для которой коэффициент детерминации составляет 97,57 % имеет вид:

$$\text{Сила выталкивания} = 867,2 - 1038 \times A - 10,5 \times B + 347,3 \times A^2 + 0,267 \times B^2 + 2,2 \times A \times B;$$

соответствующий график поверхностного отклика представлен на рисунке 42.

Таким образом, с учетом полученных результатов из двух параметров лубрикации только концентрация магния стеарата в смеси оказывает статистически значимое влияние на силу выталкивания ОДТ: с увеличением содержания антифрикционного агента – уменьшаются адгезивные эффекты таблетлируемой смеси и сила выталкивания таблетки. С учетом полученных результатов сила выталкивания была включена в КПК и ее значения были использованы для оптимизации параметров лубрикации.

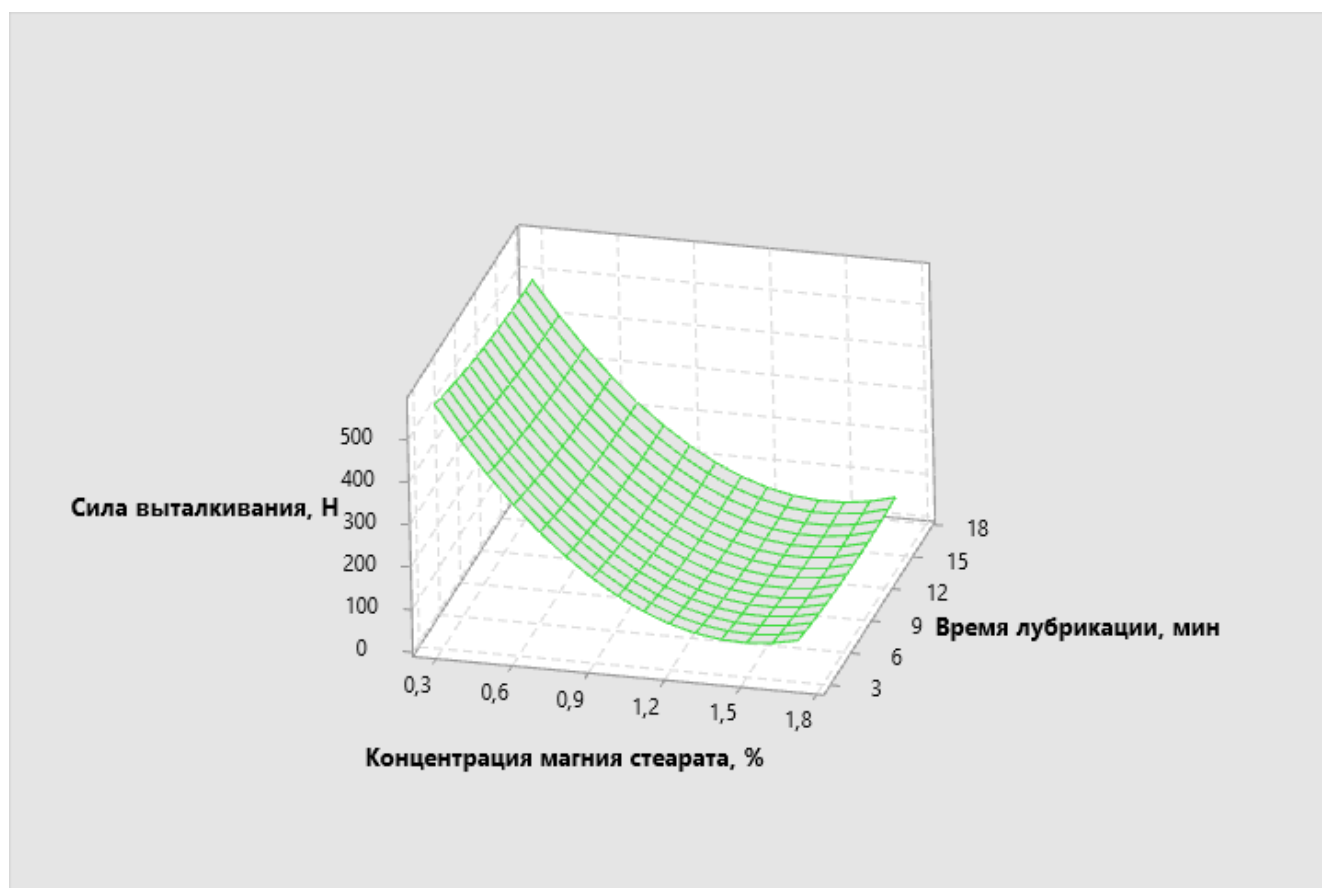


Рисунок 42 – График поверхностного отклика для силы выталкивания

6.5. Оптимизация концентрации магния стеарата и продолжительности его смешения с остальными компонентами ОДТ

Аналогично планам Бокса-Бенкена для оптимизации параметров лубрикации была использована функция желательности. На основе оценки влияния предикторов на критические характеристики ОДТ в качестве факторов оптимизации были выбраны: время дезинтеграции и смачивания ОДТ, прочность на раздавливание и истираемость таблеток и сила выталкивания ОДТ. Цели оптимизации и приоритезация выходных данных представлены в таблице 50.

Таблица 50 – Целевые значения оптимизации и приоритезация зависимых переменных

Отклик	EF	Fr	DT	Str	WT
Цель	минимум	минимум	минимум	максимум	минимум
Важность	10	8	6	4	2

Максимальный уровень значимости был присвоен силе выталкивания, поскольку для нее характерно наибольшая вариация полученных значений (изменение значений с 55,67 до 481,00 Н), а также с учетом связи данного параметра с неоднородностью внешнего вида и массы получаемых таблеток, а также влияния на износ оборудования и риском аварийной остановки таблетпрессы. Наименьшая значимость была присвоена нефармакопейному КПК – времени смачивания. Поскольку для всех изученных фармакопейных КПК были получены результаты, удовлетворяющие заявленным требованиям, их приоритизация была определена в соответствии со степенью вариации соответствующих полученных значений откликов.

Результаты оптимизации с обобщенной желательностью $D = 0,78$ представлены в таблице 51, соответствующие рассчитанные значения откликов приведены в таблице 52, графики оптимизации представлены на рисунке 43.

Таблица 51 – Оптимизированный состав и параметры процесса получения ОДТ

Компонент	Доля, %	Масса, мг
АФС	6,3131	10,0000
Кросповидон	15,0000	23,7601
Маннитол	77,5226	122,7958
Магния стеарат	1,1643	1,8442
Масса таблетки	158,4001 мг	
Продолжительность лубрикации	6,0716 мин	
Давление прессования	4,4647 кН	

Таблица 52 – Рассчитанные значения КПК ЛП в статистической обработке

КПК ЛП	Значение	Стандартная ошибка аппроксимации	Доверительный интервал (95 % CI)	Интервал прогнозирования (95 % PI)
EF	91,20	14,30	(57,30; 125,10)	(11,50; 170,90)
Str	62,97	0,43	(61,96; 63,97)	(60,61; 65,33)
Fr	0,21	0,01	(0,19; 0,23)	(0,16; 0,26)
WT	22,16	0,69	(20,53; 23,79)	(18,33; 25,99)
DT	15,41	0,21	(14,91; 15,91)	(14,23; 16,59)

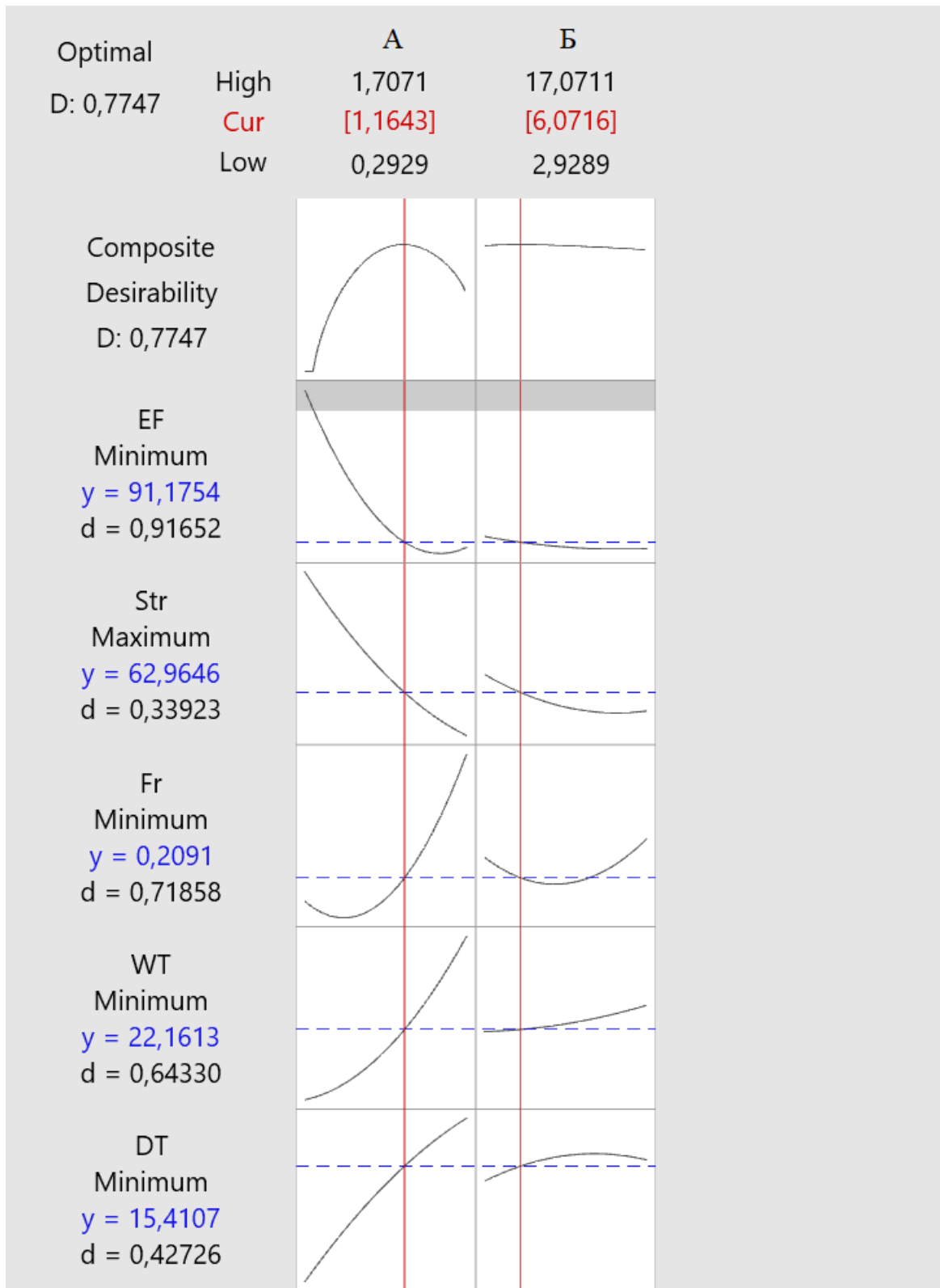


Рисунок 43 – Графики желательности для концентрации магния стеарата (А) и продолжительности его смешения с остальными компонентами ОДТ (В)

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

С учетом данных, полученных при изучении влияния параметров лубрикации – концентрации магния стеарата и продолжительности его смешения с остальными компонентами смеси, в соответствии с планами Бокса-Уилсона, была установлена линейная регрессия между временем смачивания и дезинтеграцией, при этом с ростом содержания в ОДТ гидрофобного антифрикционного агента наблюдается увеличение значений обеих зависимых переменных.

Установленная низкая вариабельность полученных данных по степени водопоглощения, высвобождения и однородности дозирования ОДТ в первых 4 опытах, укладывавшаяся в ранее рассчитанные интервалы, а также отсутствие или незначительное взаимодействие двух параметров лубрикации, позволяют не учитывать влияние данных предикторов на соответствующие отклики.

Для описания корреляции между прочностью ОДТ и истираемостью предложен полином третьего порядка. Регрессионный анализ показал статистическую значимость влияния обоих параметров лубрикации, увеличение значений которых приводят к уменьшению прочности и увеличению истираемости ОДТ, при этом влияние изменения концентрации магния стеарата более существенно.

Наблюдаемая при таблетировании значимая вариация силы выталкивания, являющаяся индикатором превалирования сил адгезии и потенциального риска нарушения технологического процесса получения ОДТ и анализ зафиксированных значений сил инъекции, позволили выявить статистически значимое влияние концентрации магния стеарат на силу выталкивания таблеток и с учетом риска влияния данного параметра технологического процесса на внешний вид, прочность и однородность ОДТ, сила выталкивания была включена в показатели оптимизации.

На основе функции желательности были определены оптимальные значения концентрации магния стеарата и продолжительности лубрикации, которые составили 1,16 % и 6,07 минут соответственно.

ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА ПРОЕКТА ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ СХЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ И СПЕЦИФИКАЦИИ, ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ПРОЕКТИРУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА

При разработке состава и изучении влияния КПП получения ОДТ на КПК ЛП для получения проектируемых таблеток была использована методика, описанная в разделе 4.3. Для разработки проекта технологической схемы и описания технологического процесса получения ЛП, необходимо установить критические стадии получения таблеток и методы их контроля. С учетом ранее проведенной оценки рисков одной из критических стадий процесса производства проектируемых ОДТ, получаемых методом прямого прессования, является смешение основных компонентов таблеток, которое должно обеспечить однородность таблетированных смесей. В соответствии с оценкой рисков, ассоциированных с природой АФС (таблица 18), однородность дозирования действующего вещества также может варьироваться в зависимости от размера его частиц, в связи с чем было изучено влияние продолжительности смешения основных компонентов ОДТ для двух диапазонов размеров частиц, для которых ранее было оценено влияние на степень высвобождения АФС.

7.1. Оптимизация продолжительности смешения основных компонентов ОДТ

Для определения оптимального значения продолжительности смешения основных компонентов было проведено смешение ВВ с АФС с размером частиц менее 50 мкм и с АФС с размером частиц от 50 до 100 мкм. Для обоих диапазонов размеров частиц ФТГХД смешение проводилось в течение 10, 15, 20 и 25 минут. Далее полученные смеси таблетировали и оценивали по первому показателю AV в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Однородность дозирования». Результаты оценки однородности дозированных единиц представлены на рисунке 44.

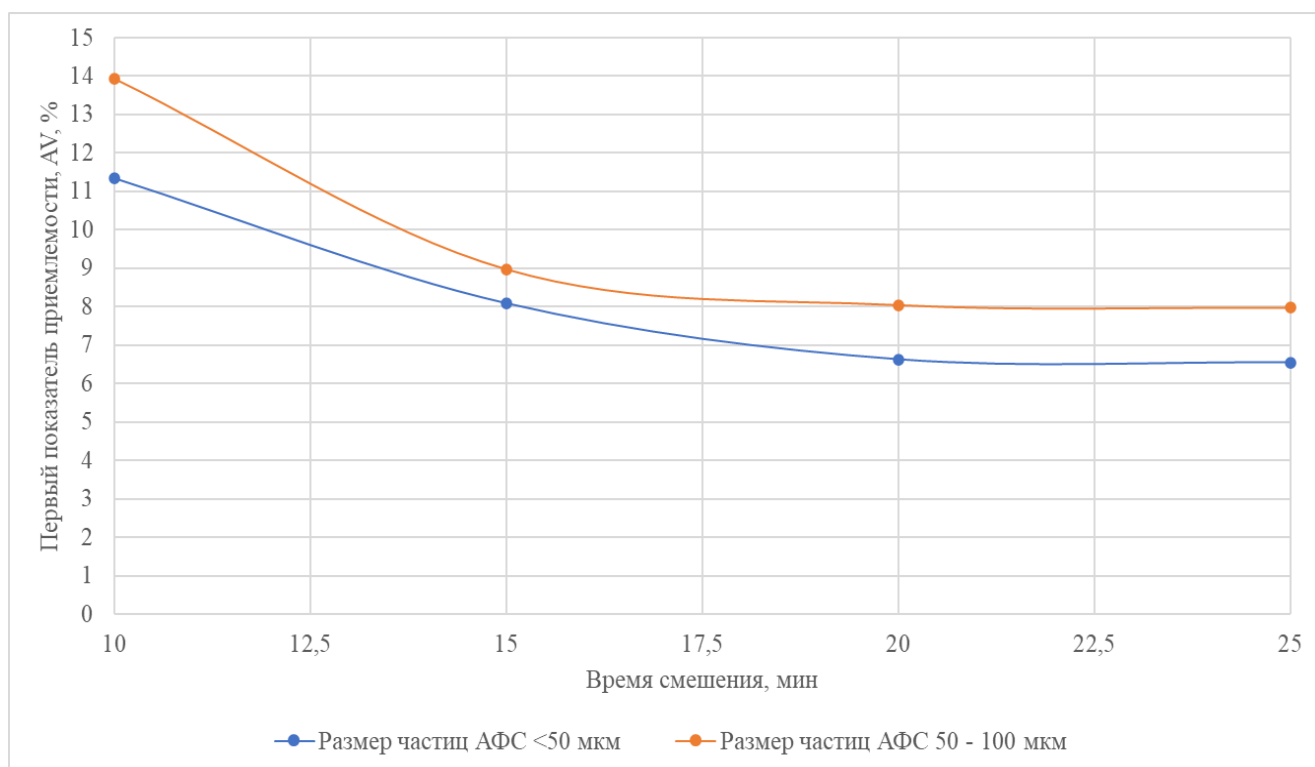


Рисунок 44 – Зависимость однородности единиц дозирования от продолжительности смешения и размера частиц АФС

В соответствии с представленными результатами можно сделать вывод об уменьшении значений первого показателя приемлемости при уменьшении размера частиц АФС, что может быть объяснено более равномерным распределением в смеси частиц ФТГХД более мелкого размера. С увеличением продолжительности смешения основных компонентов ОДТ наблюдается постепенное увеличение однородности таблетированных дозированных единиц, о чем свидетельствует уменьшение значений показателя AV, при этом, на 20 и 25 минуте смешения были получены схожие результаты оценки однородности дозирования, таким образом, нет необходимости дальнейшего увеличения продолжительности смешения. На основе полученных результатов оценки растворения АФС (раздел 3.5.) и изучения влияния размера ее частиц и продолжительности смешения с основными ВВ, предполагается использовать в качестве исходного сырья для производства ОДТ – ФТГХД с размером частиц не более 50 мкм и установить продолжительность основного смешения в течение 20 минут.

7.2. Проект технологической схемы получения ОДТ, содержащих ФТГХД, с описанием контроля критических стадий

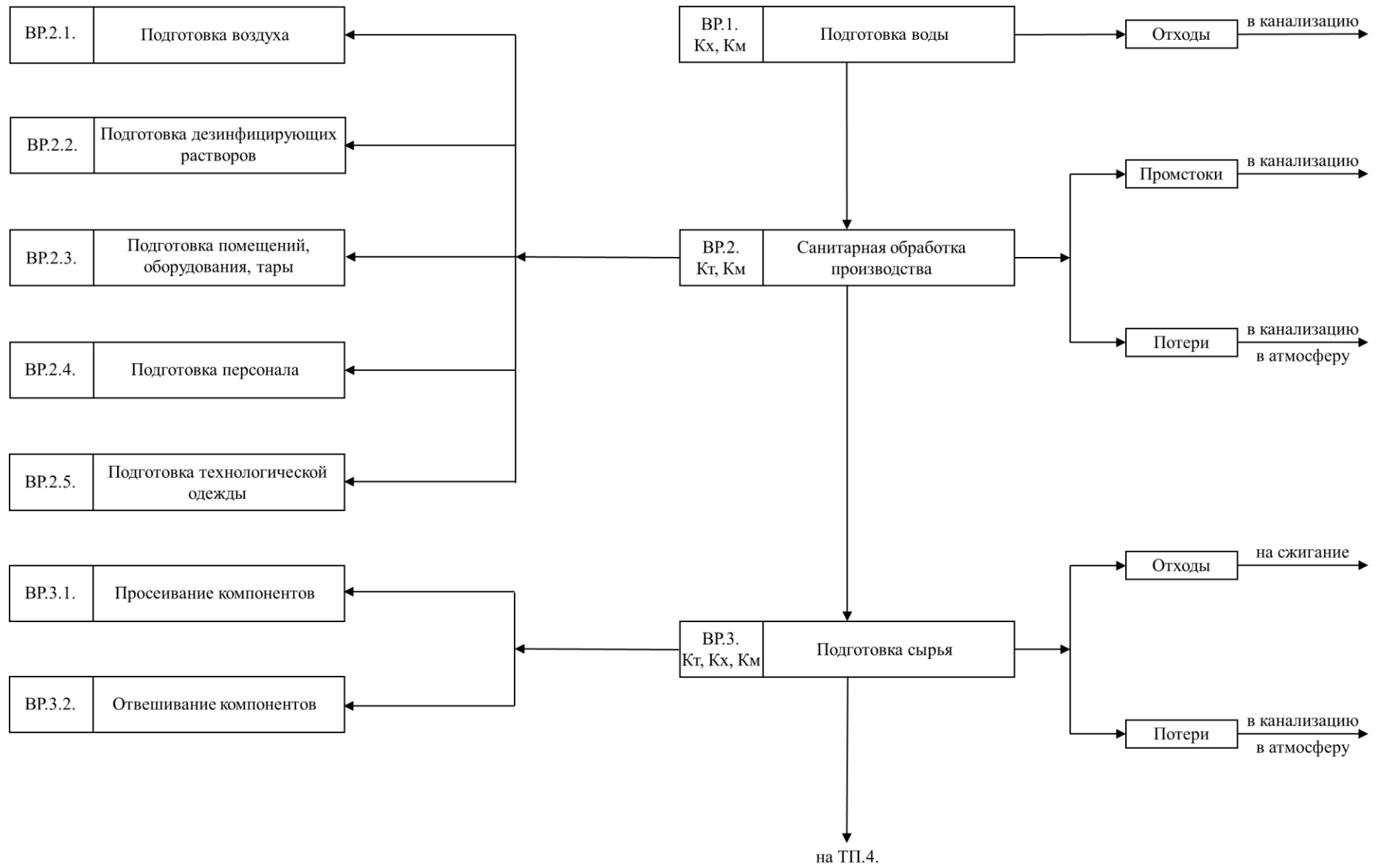
В соответствии с принципом QbD, заложенным в руководстве ICH Q8 «Фармацевтическая разработка», качество проектируемого ЛП, закладывается при его разработке и реализуется путем детального изучения критических факторов, способных влиять на эффективность и безопасность потенциального ЛС, и установления методов их контроля или управления. Используя данные, полученные при изучении влияния КПМ и КПП на КПК проектируемого ЛП путем «дизайна экспериментов», предложен технологический процесс получения ОДТ, оформленной в соответствии с ОСТ-64-02-003-2002, проект технологической схемы которого представлен на рисунке 45.

Предлагаемый технологический процесс получения ОДТ, содержащих ФТГХД, состоит из трех стадий вспомогательных работ, первые две из которых обеспечивают условия соблюдения надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза, утвержденные Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 года N 77. На стадии ВР.3. в предварительно подготовленную тару подходящего размера отвешивают в соответствии с рецептурой на серию (таблица 53) необходимое количество АФС, предварительно просеянной через сито размером 50 мкм, маннитола, кросповидона и магния стеарата, предварительно просеянные через сито 355 мкм.

Таблица 53 – Состав на серию

Компонент	Процентное содержание	Количество на 1000 таблеток, г
ФТГХД*	6,3131	10,0000
Маннитол	77,5226	122,7959
Кросповидон	15,0000	23,7600
Магния стеарат	1,1643	1,8443

*точное количество ФТГХД на серию зависит от фактического содержания ФТГХД в АФС



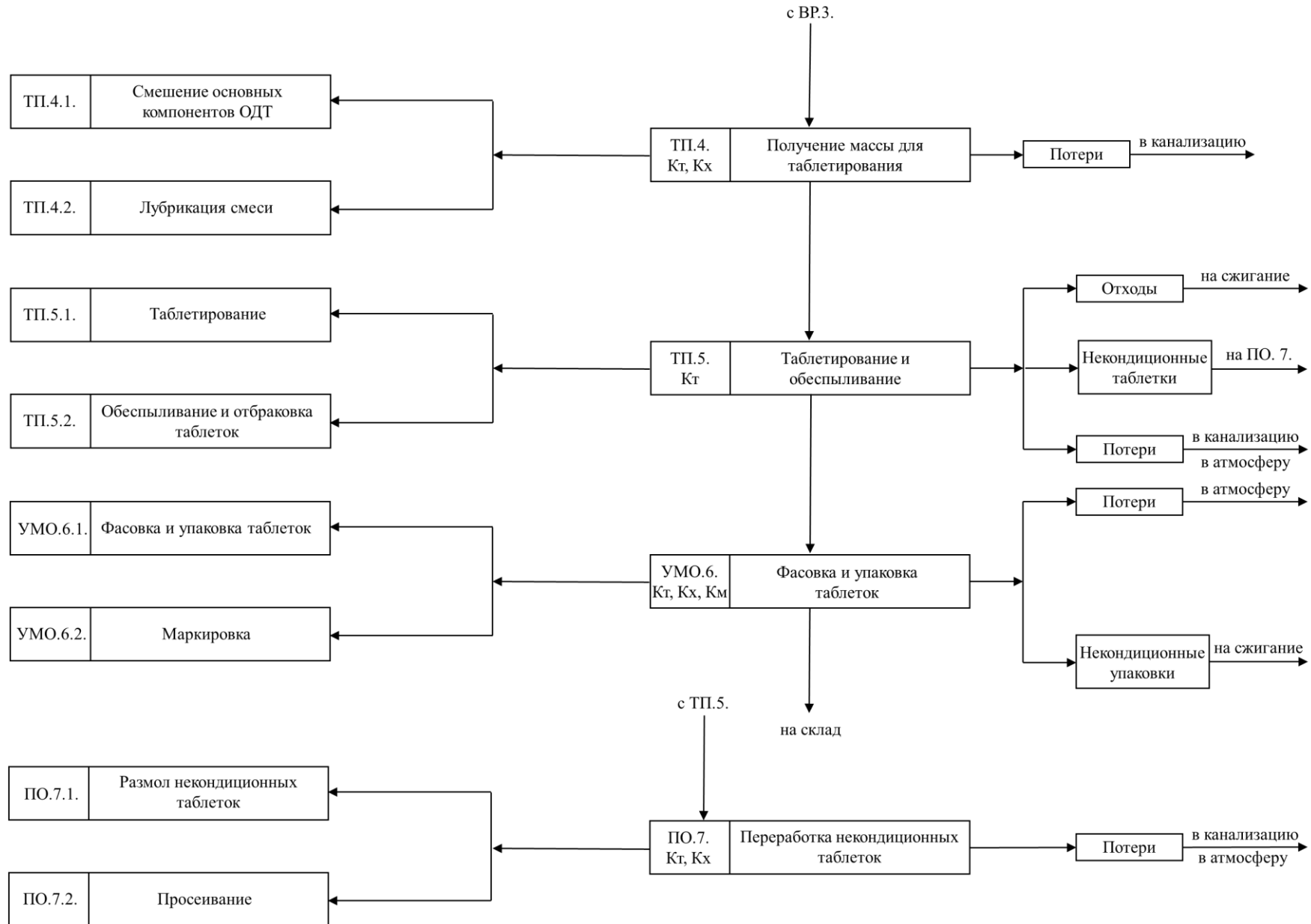


Рисунок 45 – Проект технологической схемы получения ОДТ, содержащих ФТГХД

В чашу турбулентного смесителя подходящего объема загружают последовательно: около половины необходимого количества маннитола, АФС, кросповидон и оставшуюся часть маннитола. Устанавливают частоту вращения чаши на 15 об/мин и осуществляют перемешивание в течение 20 минут. По истечении указанного времени останавливают вращение и в полученную смесь добавляют необходимое количество магния стеарата. Продолжают перемешивание при той же скорости в течение 6 минут. Из полученной смеси отбирают по три пробы из верхнего, среднего и нижнего слоя и одну объединенную пробу и определяют однородность содержания ФТГХД. При получении удовлетворительных результатов смесь передают на стадию таблетирования. Полученную со стадии перемешивания массу загружают в бункер предварительно подготовленного к работе согласно инструкции по эксплуатации роторного таблетпресса. Производят настройку параметров процесса в режиме настройки, собирая некондиционные таблетки. После настройки параметров осуществляют процесс таблетирования, периодически контролируя заданные условия и фармацевтико-технологические характеристики таблеток. Полученные ОДТ обеспыливают, собирают в подходящую емкость и передают на стадию упаковки. Полученные таблетки фасуют в банки полимерные из полиэтилена низкой плотности, укупоренные крышками, наклеивают стикер и вместе с листком-вкладышем упаковывают в пачки картонные. Серия ЛП отправляется на карантинное хранение до получения одобрения ОКК. Некондиционные таблетки перемалывают на ультрацентрибежной мельнице, полученный порошок просеивают через сито 355 мкм, анализируют на однородность содержания ФТГХД и подают на стадию ТП.5. в количестве не более 3 % от конечной таблетлируемой массы.

С учетом проведенной оценки рисков и результатов, полученных при детальном изучении влияния КПМ и КПП на КПК проектируемого ЛП, а также с учетом требований Правил надлежащей производственной практики ЕАЭС предложен контроль критических стадий процесса получения ОДТ, содержащих ФТГХД, представленный в таблице 54.

Таблица 54 – Контроль критических стадий процесса получения ОДТ, содержащих ФТГХД

Стадия процесса получения	Тип контрольной точки	Контролируемый параметр	Метод, средство контроля	Нормативное значение	Кто выполняет контроль
ВР.1. Подготовка воды	Кт	Давление, Па	Манометр	В соответствии с рекомендациями производителя	Аппаратчик
	Кх	Соответствие воды требованиям ГФ РФ, ФС «Вода очищенная»	Органолептический, химические, кондуктометрический, гравиметрический, визуальный	В соответствии с ГФ РФ, ФС «Вода очищенная»	Химик-аналитик
	Км	Соответствие воды требованиям ГФ РФ, ФС «Вода очищенная»	Микробиологический	В соответствии с ГФ РФ, ФС «Вода очищенная»	Микробиолог
ВР.2.1. Подготовка воздуха	Кт	Давление, Па	Манометр	В соответствии с рекомендациями производителя	Аппаратчик
	Кт	Число взвешенных частиц	Счетчик частиц	В соответствии с Правилами GMP (класс D)	Аппаратчик
	Км	Микробиологическая контаминация воздуха	Седиментационный, воздухоотборник	В соответствии с Правилами GMP (класс D)	Микробиолог
ВР.2.3. Подготовка помещений, оборудования, тары	Кт	Градиент давлений	Манометр	10 – 15 Па	Аппаратчик
	Кт	Время работы бактерицидных ламп	Визуальный	В соответствии с рекомендациями производителя	Аппаратчик

Продолжение Таблицы 54

	Кх	Химическая чистота поверхностей	Физико-химический, ВЭЖХ	Отсутствие ПАВ, остаточных количеств АФС	Химик-аналитик
	Кт	Наладка и контроль исправности производственного оборудования	Визуальный	Подтверждение наладки, технологической исправности, готовности оборудования	Аппаратчик
	Км	Микробиологическая контаминация поверхностей помещений и оборудования	Микробиологический	Не более 50 КОЕ на 25 см ²	Микробиолог
ВР.2.4. Подготовка персонала	Кт	Оценка готовность персонала в соответствии с процедурой	Визуально, перед началом рабочей смены	Готовность персонала	Мастер-участка
	Км	Микробиологическая контаминация рук	Микробиологический	Отсутствие спорообразующих бактерий, грибов, дрожжей	Микробиолог
ВР.2.5. Подготовка технологической одежды	Км	Микробиологическая контаминация одежды	Микробиологический	Отсутствие спорообразующих бактерий, грибов, дрожжей	Микробиолог

Продолжение Таблицы 54

ВР.3. Подготовка сырья	Кх	Соответствие спецификации на ВВ и АФС	Визуальный, спектроскопические, хроматографические, кондуктометрия, химические, ВЭЖХ, гравиметрический	Соответствие требованиям спецификаций	Химик-аналитик
	Км	Соответствие ВВ требованиям ГФ РФ, ОФС «Микробиологическая чистота»	Микробиологический	В соответствии с ГФ РФ, ОФС «Микробиологическая чистота»	Микробиолог
ВР.3.1. Просеивание компонентов	Кт	Размер отверстий сит	Визуальный	АФС – 50 мкм, ВВ – 355 мкм	Аппаратчик
ВР.3.2. Взвешивание компонентов	Кт	Соответствие взвешиваемого количества производственной рецептуре	Визуальный	В соответствии с производственной рецептурой	Аппаратчик
ТП.4.1. Смешение основных компонентов ОДТ	Кт	Время смешения	Визуальный	20 минут	Аппаратчик
	Кт	Скорость смешения	Визуальный	15 об/мин	Аппаратчик
ТП.4.2. Лубрификация смеси	Кт	Время лубрикации	Визуальный	6 минут	Аппаратчик
	Кх	Однородность смешения	УФ-спектрофотометрия	RSD не более 5 %	Химик-аналитик

Продолжение Таблицы 54

ТП.5.1. Таблетирование	КТ	Размер пуансона, мм	Визуальный	8 мм	Аппаратчик
		Скорость вращения ротора, об/мин	Визуальный	10 – 15 об/мин	Аппаратчик
		Дозировка	Визуальный	170 – 180	Аппаратчик
		Погружение верхнего пуансона	Визуальный	6 – 7 мм	Аппаратчик
		Усилие прессования	Визуальный	4,5 кН	Аппаратчик
		Сила выталкивания	Визуальный	Не более 100 Н	Аппаратчик
ТП.5.2. Обеспыливание и отбраковка таблеток	КТ	Описание	Визуальный	В соответствии с проектом спецификации	Аппаратчик
		Высота таблетки	Тестер прочности таблеток на раздавливание	3 – 4 мм	Аппаратчик
		Средняя масса и однородность по массе	ГФ РФ, ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм»	Средняя масса: 158,4 мг ± 7,5 %; Отклонение от средней массы: 18/20 не более 7,5 %, 2/20 не более 15 %	Аппаратчик
		Распадаемость	ГФ РФ, ОФС «Распадаемость таблеток и капсул»	Не более 30 с	Аппаратчик
		Прочность на раздавливание	ГФ РФ, ОФС «Прочность таблеток на раздавливание»	Не менее 60 Н	Аппаратчик

Продолжение Таблицы 54

		Истираемость	ГФ РФ, ОФС «Истираемость таблеток», прибор 2	Не более 1 %	Аппаратчик
УМО.6.1. Фасовка и упаковка таблеток	Кт	Полнота заполнения	Визуальный	Количество таблеток в соответствии с проектом нормативного документа и листка- вкладыша	Аппаратчик
		Наличие листка- вкладыша	Визуальный	Один листок- вкладыш	Аппаратчик
		Внешний вид пачки	Визуальный	Без механических повреждений	Аппаратчик
УМО.6.2. Маркировка	Кт	Маркировка	Визуальный	Четкая, разборчивая, текст в соответствии с проектом маркировки	Аппаратчик
Выпускающий контроль качества	Кх, Км	Соответствие проекту спецификации на выпуск	В соответствии с проектом нормативного документа по качеству	В соответствии с проектом спецификации на выпуск	Химик- аналитик, микробиолог
ПО.7.1. Размол некондиционных таблеток	Кт	Скорость ротора мельницы	Визуальный	6000 об/мин	Аппаратчик
ПО.7.2. Просеивание	Кт	Размер сита	Визуальный	355 мкм	Аппаратчик

7.3. Проект спецификации на ОДТ, содержащие ФТГХД, и ее обоснование

Проект спецификации на ОДТ, содержащие ФТГХД, был разработан в соответствии с Правилами регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, утвержденными Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. N 78, Руководством по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата, утвержденного Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 7 сентября 2018 г. N 151, Руководством ИСН Q6A «Спецификации: аналитические методики и критерии приемлемости для новых лекарственных веществ и лекарственных препаратов – химические вещества» и Руководством по экспертизе лекарственных средств, том II. Проект спецификации представлен в таблице 55.

Таблица 55 – Проект спецификации на ОДТ, содержащие ФТГХД

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний
Описание	Круглые двояковыпуклые таблетки белого цвета	Визуальный
Идентификация	УФ-спектр поглощения 0,001 % раствора в метаноле, снятый в области длин волн от 220 до 380 нм должен иметь максимум при 292 ± 2 нм и минимум при 234 ± 2 нм	УФ-спектрофотометрия
	Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика ФТГХД на хроматограмме стандартного раствора (показатель «Родственные примеси»)	ВЭЖХ
Распадаемость	Не более 30 с	ГФ РФ* или ФЕАЭС
Растворение	Не менее 70 % (Q) ФТГХД от заявленного количества через 45 минут	ГФ РФ* или ФЕАЭС
Родственные примеси	**	ВЭЖХ

Продолжение Таблицы 55

Однородность единиц дозирования	В соответствии с требованиями	ГФ РФ*, способ 1 или ФЕАЭС, способ прямого определения
Микробиологическая чистота	Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^3 КОЕ в 1 г; Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^2 КОЕ в 1 г; Отсутствие <i>Escherichia coli</i> в 1 г. (Категория 3А)	ГФ РФ* или ФЕАЭС
Количественное определение	Не менее 95,0 и не более 105,0 %	УФ-спектрофотометрия

*ссылки приведены на ГФ РФ XIV издания;

**в разработке, норма в соответствии с ГФ РФ, ОФС.1.1.0023.18 «Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах»

Нормативная часть показателя «Описание» определена в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Таблетки» и на основе фактических данных анализа серий проектируемого ЛП при изучении его стабильности. Для определения подлинности ФТГХД в ОДТ в соответствии с Решением Коллегии ЕЭК № 151 для обеспечения специфичности методики и возможности идентифицировать близкородственные соединения предложена комбинация хроматографического метода (ВЭЖХ) и УФ-спектрофотометрии, при этом хроматографическое определение подлинности предполагается осуществлять одновременно с показателем «Родственные примеси». В соответствии с руководством FDA по ОДТ [84] включен показатель «Распадаемость» с нормой – не более 30 с, что не противоречит ГФ РФ, ОФС «Таблетки». С учетом класса БКС для обеспечения контроля степени перехода ФТГХД в растворимое состояние включен показатель «Растворение», при этом нормативная часть – «Не менее 70 % (Q) ФТГХД от заявленного количества через 45 минут» – установлена в соответствии с полученными данными по стабильности ЛП (раздел 7.4.). Показатель «Родственные примеси» включен в спецификацию в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Лекарственные препараты» для контроля содержания потенциально токсичных

соединений в проектируемом ЛП, при этом нормативная часть данного показателя будет установлена в соответствии с Решением Коллегии ЕЭК № 138 «Об утверждении Требований к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и контроля содержания примесей» и ГФ РФ, ОФС «Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах» с учетом максимальной суточной дозы, имеющихся токсикологических данных, а также с учетом накопления данных по стабильности ЛП. Контроль однородности содержания ФТГХД осуществляется способом прямого определения, поскольку содержание действующего вещества в проектируемом ЛП составляет менее 25 %. Количественное содержание в каждой единице дозирования определяется методом УФ-спектрофотометрии в соответствии с методикой, приведенной в показателе «Количественное определение». Нормативная часть показателя «Микробиологическая чистота» указана в соответствии с требованиями одноименной ОФС ГФ РФ. Показатель «Количественное определение» включен в соответствии с Решением Коллегии ЕЭК № 151, нормативная часть которого установлена в соответствии с допустимым отклонением от средней массы и данными по стабильности. В соответствии с ГФ РФ, ОФС «Таблетки» показатель «Однородность массы» не включен в проект спецификации на ОДТ, содержащие ФТГХ, поскольку предусмотрен контроль по показателю «Однородность единиц дозирования». Отсутствие контроля по показателям «Потеря в массе при высушивании» или «Вода» обосновано низкой гигроскопичностью смесей для таблетирования (таблица 25), и соответственно, ОДТ.

7.4. Данные по стабильности проектируемого ЛП

Стабильность в процессе хранения, транспортировки и применения является одним из важнейших требований, предъявляемых к ЛП. С целью получения данных об изменении качества проектируемого ЛП с течением времени под влиянием различных факторов окружающей среды (температуры, влажности), а также установления рекомендуемых условий хранения и предполагаемого срока годности, изучение стабильности проектируемого ЛП было проведено в соответствии с Требованиями к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций, утвержденными Коллегией Евразийской экономической комиссии от 10 мая 2018 г. N 69. Исследование стабильности было проведено на трех сериях, полученных по предложенной технологии и заложенных на хранение в предлагаемой первичной упаковке (банка из полиэтилена низкой плотности) в климатическую камеру Memmert HPP110, Германия при 25 ± 2 °C и относительной влажности 60 ± 5 % в течение 12 месяцев и при 40 ± 2 °C и относительной влажности 75 ± 5 % в течение 6 месяцев. В первой и последней точке оценка качества ОДТ проводилась по всем показателям проекта спецификации и КПК ЛП, изученным в процессе фармацевтической разработки, в остальных точках анализ был проведен по характеристикам проектируемого ЛП, которые в наибольшей степени подвергаются изменению в процессе хранения. Данные по стабильности представлены в таблице 56.

По истечении 12 месяцев долгосрочных и 6 месяцев ускоренных исследований каких-либо существенных отклонений от нормативных значений проекта спецификации и заложенных в процессе разработки характеристик ОДТ не обнаружено. Полученные значения КПК проектируемого ЛП находятся в рассчитанных интервалах, полученных в соответствии с планами Бокса-Бенкена и Бокса-Уилсона, что говорит о достоверности подобранных регрессионных моделей.

Таблица 56 – Результаты изучения стабильности ОДТ, содержащих ФТГХД

Срок хранения, мес.	Характеристика / показатель качества ОДТ										
	Описание	Идентификация	DT, с	WT, с	WAR, %	Str, Н	Fr, %	AV, %	Re, %	МБЧ	As, %
Данные долгосрочных исследований стабильности при температуре 25 ± 2 °С и относительной влажности 60 ± 5 %											
0	Соответствует	Соответствует	15,32 ± 0,25	22,64 ± 2,32	135,80 ± 3,79	61,80 ± 1,62	0,21 ± 0,02	6,66 ± 0,2	82,41 ± 0,57	Соответствует	99,39 ± 1,98
3	Соответствует	-	15,20 ± 0,27	-	-	62,33 ± 1,43	-	-	82,59 ± 0,82	-	99,35 ± 1,36
6	Соответствует	-	15,28 ± 0,74	-	-	61,00 ± 2,48	-	-	81,78 ± 1,14	-	99,22 ± 1,66
9	Соответствует	-	15,47 ± 0,46	-	-	63,67 ± 1,43	-	-	82,72 ± 0,87	-	99,10 ± 1,98
12	Соответствует	Соответствует	15,66 ± 0,42	23,42 ± 3,69	135,57 ± 8,66	64,67 ± 3,79	0,22 ± 0,01	6,31 ± 0,2	82,11 ± 1,34	Соответствует	99,06 ± 1,88
Данные ускоренных исследований стабильности при температуре 40 ± 2 °С и относительной влажности 75 ± 5 %											
3	Соответствует	-	15,43 ± 0,84	-	-	63,67 ± 1,43	-	-	82,33 ± 1,38	-	99,15 ± 1,36
6	Соответствует	Соответствует	15,74 ± 0,71	23,78 ± 2,67	134,04 ± 9,54	65,33 ± 2,87	0,23 ± 0,01	6,06 ± 0,3	82,21 ± 2,32	Соответствует	98,98 ± 1,81

*DT – распадаемость, WT – время смачивания, WAR – степень водопоглощения, Str – прочность таблеток на раздавливание, Fr – истираемость, AV – однородность дозированных единиц, Re – растворение, МБЧ – микробиологическая чистота, As – количественное определение

В процессе хранения разрабатываемого ЛП внешний вид таблеток не изменялся и соответствовал ГФ РФ, ОФС «Таблетки». С течением времени экспериментального хранения наблюдается незначительное увеличение времени дезинтеграции и времени смачивания ОДТ, что более выражено в ускоренных исследованиях стабильности. Наблюдаемая тенденция может быть связана с процессом «цементации» таблеток, ускоряющемся при повышенной температуре. Также данным явлением может быть объяснено увеличение прочности ОДТ в процессе хранения. Незначительная тенденция, также не приводящая к нарушению ранее установленных норм, наблюдается для показателя «Количественное определение». Существенного изменения высвобождения ФТГХД в процессе хранения не было выявлено, однако при накоплении данных в процессе анализа серий по показателю «Растворение» было получено несколько значений составляющих менее 80 %, что соответствует значению Q менее 75 %, в связи с чем нормативная часть в проекте спецификации для соответствующего показателя предполагается представить в редакции «Не менее 70 % (Q) ФТГХД от заявленного количества через 45 минут». Другие показатели качества и характеристики ОДТ в процессе хранения не подверглись значимому изменению.

Таким образом, в соответствии с Требованиями к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций, утвержденными Коллегией Евразийской экономической комиссии от 10 мая 2018 г. N 69, предполагаемый срок годности проектируемого ЛП составляет 2 года, а условия хранения – «При температуре не выше 25 °С в оригинальной упаковке (банка в пачке)».

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7

При анализе влияния продолжительности смешения основных компонентов ОДТ и размера частиц АФС на однородность содержания действующего вещества в проектируемом ЛП было установлено оптимальное значение времени основного смешения и рекомендуемый диапазон размеров частиц ФТГХД, которые составили: менее 20 минут и 50 мкм соответственно.

Указанные данные, а также результаты, полученные при детальном изучении влияния КПМ и КПП на КПК проектируемого ЛП были использованы при разработке проекта технологической схемы получения ОДТ, содержащих ФТГХД, и установлены основные критические стадии проектируемого производства, методы их контроля и нормативные значения. Предлагаемая технология получения ЛП состоит из основных стадий: просеивания ВВ и АФС, смешения основных компонентов ОДТ, лубрикации полученной смеси, таблетирования и упаковки.

В соответствии с регуляторными требованиями, предъявляемыми к проектируемой ЛФ, был разработан и обоснован проект спецификации на ОДТ, содержащие ФТГХД. Полученные согласно предложенной технологии серии ЛП были подвергнуты долгосрочным и ускоренным испытаниям стабильности по изученным КПК, результаты которых позволяют предложить срок хранения проектируемого ЛП в течение 2 лет при хранении при температуре не выше 25 °С в оригинальной упаковке (банка в пачке).

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Анализ основных методов получения таблеток, диспергируемых в полости рта, показал, что наиболее востребованными остаются классические методы получения таблеток, такие как влажная грануляция и прямое прессование. Приведены основные требования, предъявляемые к разработке и контролю качества таблеток, диспергируемых в полости рта.

2. Данные, полученные при изучении биофармацевтической растворимости и кишечной проницаемости, позволили отнести производное ФТГХД к II классу БКС. Было установлено отсутствие влияния полиморфизма на растворение АФС. Чувствительность к повышенной влажности и температуре предопределили метод формулирования АФС – прямое прессование.

3. В соответствии с принципом QbD на основе регуляторных требований и рекомендаций, а также изученных свойств АФС был научно обоснован целевой профиль качества проектируемого ЛП, включая ЛФ. Применение оценки рисков к характеристикам, входящим в целевой профиль качества, позволило вычлнить критические показатели качества проектируемого ЛП. Из первоначального перечня потенциальных критических факторов с применением матрицы оценки риска на основе инструмента предварительного анализа опасностей были установлены критические показатели материалов и процесса.

4. Изучение совместимости АФС с основными эксципиентами, используемыми в технологии прямого прессования таблеток, диспергируемых в полости рта, позволило отобрать потенциальные вспомогательные вещества для дальнейшего формулирования. Оценка с применением метода SeDeM модельных составов, содержащих отобранные вспомогательные вещества, по совокупности предкомпрессионных характеристик и критических показателей качества показала превалирование показателей состава, содержащего маннитол, кросповидон и магния стеарат, который был отобран для углубленного изучения и оптимизации.

5. С помощью подхода «дизайн экспериментов» в соответствии с планами Бокса-Бенкена и Бокса-Уилсона с применением метода поверхностного отклика были установлены функциональные зависимости между критическими показателями материалов – концентрацией АФС, кросповидона и магния стеарата, критическими показателями процесса – давлением прессования, продолжительностью лубрикации и критическими показателями качества проектируемого ЛП. На основе полученных данных с помощью функции желательности был предложен оптимальный состав ЛФ, содержащий 6,31 % АФС (масса ОДТ – 158,40 мг) 15,00 % кросповидона и 1,16 % магния стеарата. Оптимальные значения давления прессования и продолжительности лубрикации составили 4,47 кН и 6,07 минут соответственно.

6. По результатам углубленного изучения влияния критических показателей материалов и процесса на критические показатели качества проектируемого ЛП предложен проект технологической схемы получения таблеток, диспергируемых в полости рта, и описания критических стадий процесса их получения, разработан и обоснован проект спецификации на таблетки, содержащие ФТГХД. На основе полученных данных по стабильности проектируемого ЛП предложен предварительный срок годности (2 года) при хранении при температуре не выше 25 °С в оригинальной упаковке (банка в пачке).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АФС – активная фармацевтическая субстанция
- БКС – биофармацевтическая классификационная система
- ВВ – вспомогательное вещество
- КПК – критический показатель качества
- КПМ – критический показатель материала
- КПП – критический показатель процесса
- КЭ – коэффициент эффлюкса
- ЛП – лекарственный препарат
- ЛС – лекарственное средство
- ЛФ – лекарственная форма
- ОДТ – ородиспергируемые таблетки
- ФТГХД – фенилтетрагидрохинолиндион
- ЦПК – целевой профиль качества
- А – угол естественного откоса
- As – количественное определение
- AV – показатель приемлемости однородности дозирования
- ВР – Британская фармакопея
- С – прессуемость (прочность на раздавливание)
- Сасо-2 – клетки аденокарциномы толстого кишечника
- СИ – коэффициент прессуемости
- DT – распадаемость, время дезинтеграции
- EMA – European Medicines Agency
- F – сыпучесть
- FDA - Food and Drug Administration
- Fr – истираемость
- GCI – индекс хорошего прессования
- H – гигроскопичность
- HR – коэффициент Хауснера

I – внутренняя пористость

ICH – International Council for Harmonisation

IP – параметрический индекс

IPP – параметрический индекс профиля

JP – Японская фармакопея

L – потеря в массе при высушивании

P – содержание частиц менее 50 мкм

P_{app} – кажущийся коэффициент проницаемости

P_{gp} – P-гликопротеин

QbD – Quality by Design

Re – степень высвобождения, растворение

S – разброс частиц по размерам

SeDeM – Sediment Delivery Model

TRPA1 – transient receptor potential ankyrin 1

USP – Фармакопея США

WAR – степень водопоглощения

WT – время смачивания

WV – однородность массы

ρ – насыпная плотность после 1250 соскоков

ρ_0 – насыпная плотность без уплотнения

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственный реестр лекарственных средств : сайт : некоммерч. Интернет-версия. – URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> (дата обращения: 01.02.2023).
2. Дезинтегранты и их влияние на растворение субстанций разных классов по биофармацевтической классификационной системе / И.Е. Смехова, В.А. Вайнштейн, Ю.М. Ладутько [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – №4. – С. 62–72.
3. Использование метода SeDeM-ODT для разработки таблеток ГК-2, диспергируемых в полости рта / С.В. Тишков, Е.В. Блынская, К.В. Алексеев, В.В. Буева // Российский биотерапевтический журнал. – 2021. – Т.20. – №3. – С. 34–46. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-3-34-46>
4. Исследование анальгетической и противовоспалительной активности нового неопиоидного анальгетика на основе селективного ингибитора ионных каналов TRPA1 / Е.А. Бесхмельница, М.В. Покровский, А.А. Должиков [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2019. – Т.26. – №1. – С. 77-87. DOI: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-1-77-87>
5. Кравченко, А.Д. Изучение кишечной проницаемости на модели Сасо-2 производного фенилтетрагидрохинолиндиона с TRPA1-антагонистической активностью / А.Д. Кравченко, Н.В. Пятигорская // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – Т.11. – №3. – С. 195-201. DOI: <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-195-201>
6. Кравченко, А.Д. Изучение технологических свойств и биофармацевтической растворимости производного фенилтетрагидрохинолиндиона с TRPA1-антагонистической активностью / А.Д. Кравченко, Н.В. Пятигорская, Н.С. Николенко // Фармация. – 2022. – Т.71. – №3. – С. 42-47. DOI: <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-03-07>
7. Кравченко, А.Д. Каналы временного рецепторного потенциала: классификация, строение и функции / А.Д. Кравченко, Н.В. Пятигорская, О.В.

Филиппова // Фармацевтическое образование СамГМУ. История, современность, перспективы : Сборник трудов конференции. – Самара : СамГМУ, 2021. – С. 328-335.

8. Кравченко, А.Д. Обоснование начальной дозы нового антагониста TRPA1 – производного фенилтетрагидрохинолиндиона для клинических исследований / А.Д. Кравченко, Н.В. Пятигорская // Инновационные исследования: теоретические основы и практическое применение : Сборник статей по итогам Всероссийской научно-практической конференции. – Уфа : Стерлитамакс: АМИ, 2021. – С. 62-65.

9. Кравченко, А.Д. Обоснование показателей качества фармацевтической субстанции из группы производных фенилтетрагидрохинолиндиона / А.Д. Кравченко, Н.В. Пятигорская // Молодая фармация – потенциал будущего : Сборник материалов XI всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием. – Санкт-Петербург : СПХФУ, 2021. – С. 164.

10. Кравченко, А.Д. Орорастворимые и ородиспергируемые лекарственные формы в РФ / А.Д. Кравченко // Концепции и модели устойчивого инновационного развития общества : Сборник статей Международной научно-практической конференции. – Волгоград: Аэтерна, 2022. – С. 118-120.

11. Кравченко, А.Д. Терапевтические возможности антагонистов TRPA1 / А.Д. Кравченко, Н.В. Пятигорская, Г.Э. Бркич // Корреляционное взаимодействие науки и практики в новом мире : Сборник научных статей по итогам международной научно-практической конференции. – Санкт-Петербург : СПбГЭУ, 2020. – С. 188-190.

12. О Руководстве по валидации процесса производства лекарственных препаратов для медицинского применения от 26 сентября 2017. – Текст : электронный // КонсультантПлюс : справочно-правовая система : сайт. – URL: <https://www.consultant.ru> (дата обращения: 13.02.2023). Режим доступа : для зарегистрированных пользователей.

13. Определение равновесной биофармацевтической растворимости на примере субстанции пироксикама / Л.Л. Шамаль, Т.А. Ярушок, И.Е. Шохин, Г.В. Раменская // *Биофармацевтический Журнал*. – 2011. – Т.3. – №3. – С. 39–42.
14. Полиморфный скрининг и изучение строения кристаллических форм производного фенилтетрагидрохинолиндиона с TRPA1-антагонистической активностью / А.Д. Кравченко, Н.В. Пятигорская, Н.С. Николенко, Е.И. Нестеркина // *Фармация*. – 2022. – Т.71. – №6. – С. 27-33. DOI: <https://doi.org/10/29296/25419218-2022-06-04>
15. Применение копроцессных вспомогательных веществ в технологии таблетированных лекарственных форм / К.В. Алексеев, Е.В. Блынская, В.В. Буева [и др.] // *Волгоградский научно-медицинский журнал*. – 2019. – №3. – С. 43-48.
16. Пятигорская, Н.В. Изучение физико-химических свойств производного фенилтетрагидрохинолиндиона с TRPA1-антагонистической активностью / Н.В. Пятигорская, Н.С. Николенко, А.Д. Кравченко // *Химико-Фармацевтический Журнал*. – 2022. – Т.56. №4. – С. 48–52. DOI: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-4-48-52>
17. A new formulation for orally disintegrating tablets using a suspension spray-coating method / Y. Okuda, Y. Irisawa, K. Okimoto, T. Osawa, S. Yamashita // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2009. – Vol.382. – №1–2. P. 80–87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.08.010>
18. A Role of TRPA1 in Mechanical Hyperalgesia is Revealed by Pharmacological Inhibition / M. Petrus, A.M. Peier, M. Bandell [et al.] // *Mol Pain*. – 2007. – Vol. 3. – P. 1744-8069. DOI: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-3-40>
19. A structural overview of the ion channels of the TRPM family / Y. Huang, R. Fliegert, A.H. Guse [et al.] // *Cell Calcium*. – 2020. – Vol.85. – P. 102111. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2019.102111>
20. Aarti, J. Orodispersible Tablets: A Comprehensive Review / J. Aarti, J. Sonali, D. Ganesh // *Research Journal of Pharmacy and Technology*. – 2014. – Vol.7. – №3. – P. 368–375.

21. Abdelbary, G. The preparation of orally disintegrating tablets using a hydrophilic waxy binder / G. Abdelbary, P. Prinderre, C. Eouani // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2004. – Vol.278. – №2. – P. 423–433. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.03.023>
22. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties / H. Yang, C. Lou, L. Sun [et al.] // *Bioinformatics*. – 2019. – Vol.35. – №6. – P. 1067–1069. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707>
23. Agiba, A.M. Insights into formulation technologies and novel strategies for the design of orally disintegrating dosage forms: a comprehensive industrial review / A.M. Agiba, A.B. Eldin // *Int J Pharm Pharm Sci*. – 2019. – P. 8–20. DOI: <https://doi.org/10.22159/ijpps.2019v119.34828>
24. Akhtar, M.S. An overview: formulation and evaluation for fast dissolving tablets / M.S. Akhtar // *Journal of Harmonized Research in Pharmacy*. – 2019. – Vol.8 – №4. – P. 55. DOI: <https://doi.org/10.30876/johr.8.4.2019.55-64>
25. Al-Shamlan, F. Bradykinin sensitizes the cough reflex via a B2 receptor dependent activation of TRPV1 and TRPA1 channels through metabolites of cyclooxygenase and 12-lipoxygenase / F. Al-Shamlan, A.Z. El-Hashim // *Respir Res*. – 2019. – Vol.20. – №1. – P. 110. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1060-8>
26. ANKTM1, a TRP-like Channel Expressed in Nociceptive Neurons, Is Activated by Cold Temperatures / G.M. Story, A.M. Peier, A.J. Reeve [et al.] // *Cell*. – 2003. – Vol.112. – №6. – P. 819–829. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00158-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00158-2)
27. Attenuation of Mechanical Hypersensitivity by an Antagonist of the TRPA1 Ion Channel in Diabetic Animals / H. Wei, M.M. Hämäläinen, M. Saarnilehto [et al.] // *Anesthesiology*. – 2009. – Vol.111. – №1. – P. 147–154. DOI: <https://doi.org/10.1097/aln.0b013e3181a1642b>
28. Badgujar, B. The technologies used for developing orally disintegrating tablets: A review / B. Badgujar, A. Mundada // *Acta pharmaceutica*. – 2011. – Vol.61. – №2. – P. 117–139. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10007-011-0020-8>

29. Bali, U. Application of Box–Wilson experimental design method for the photodegradation of textile dyestuff with UV/H₂O₂ process / U. Bali // *Dyes and Pigments*. – 2004. – Vol.60. – №3. – P. 187–195. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0143-7208\(03\)00145-1](https://doi.org/10.1016/s0143-7208(03)00145-1)
30. Bandyopadhyay, A. Target product profile: a planning tool for the drug development / A. Bandyopadhyay // *MOJ Bioequivalence & Bioavailability*. – 2017. – Vol.3. – №4. DOI: <https://doi.org/10.15406/mojbb.2017.03.00044>
31. Bellono, N.W. UV light phototransduction activates transient receptor potential A1 ion channels in human melanocytes / N.W. Bellono, L.G. Kammel, A.L. Zimmerman // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2013. – Vol.110. – №6. – P. 2383–2388. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1215555110>
32. Bhattacharya, S. Central Composite Design for Response Surface Methodology and Its Application in Pharmacy / S. Bhattacharya // *Response Surface Methodology in Engineering Science*. IntechOpen. 2021. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.95835>
33. Blocking PAR2 alleviates bladder pain and hyperactivity via TRPA1 signal / D. Chen, N. Liu, M. Li, S. Liang // *Translational Neuroscience*. – 2016. – Vol.7. – №1. – P. 133–138. DOI: <https://doi.org/10.1515/tnsci-2016-0020>
34. Box, G.E.P. On the Experimental Attainment of Optimum Conditions / G.E.P. Box, K.B. Wilson // *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*. – 1951. – Vol.13. – №1. – P. 1–38. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1951.tb00067.x>
35. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods / S.L.C. Ferreira, R.E. Bruns, H.S. Ferreira [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2007. – Vol.597. – №2. – P. 179–186. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.011>
36. Brniak, W. Evaluation of co-processed excipients used for direct compression of orally disintegrating tablets (ODT) using novel disintegration apparatus / W. Brniak, R. Jachowicz, A. Krupa // *Pharmaceutical Development and Technology*. – 2013. – Vol.18. – №2. – P. 464–474. DOI: <https://doi.org/10.3109/10837450.2012.710238>

37. Censi, R. Polymorph Impact on the Bioavailability and Stability of Poorly Soluble Drugs / R. Censi, P.D. Martino // *Molecules*. – 2015. – Vol.20. – №10. – P. 18759–18776. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules201018759>
38. Chen, H. Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) antagonists: a patent review (2015–2019) / H. Chen, J.A. Terrett // *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. – 2020. – Vol.30. – №9. – P. 643–657. DOI: <https://doi.org/10.1080/13543776.2020.1797679>
39. Chen, Y. Proteinase-activated receptor 2 sensitizes transient receptor potential vanilloid 1, transient receptor potential vanilloid 4, and transient receptor potential ankyrin 1 in paclitaxel-induced neuropathic pain / Y. Chen, C. Yang, Z.J. Wang // *Neuroscience*. – 2011. – Vol.193. – P. 440–451. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.06.085>
40. Christensen, A.P. The Outer Pore and Selectivity Filter of TRPA1 / A.P. Christensen, N. Akyuz, D.P. Corey // *PLoS ONE* / ed. Barnes S. – 2016. – Vol.11. – №11. – P. e0166167. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166167>
41. Comparison of functional properties of the Ca²⁺-activated cation channels TRPM4 and TRPM5 from mice / N.D. Ullrich, T. Voets, J. Prenen [et al.] // *Cell Calcium*. – 2005. – Vol.37. – №3. – P. 267–278. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2004.11.001>
42. Dailey, L.A. Pharmaceutical quality by design in academic nanomedicine research: stifling innovation or creativity through constraint / L.A. Dailey // *Journal of Interdisciplinary Nanomedicine*. – 2018. – Vol. 3. – № 4. – P. 175–182. DOI: <https://doi.org/10.1002/jin2.52>
43. Daina, A. iLOGP: A Simple, Robust, and Efficient Description of *n* - Octanol/Water Partition Coefficient for Drug Design Using the GB/SA Approach / A. Daina, O. Michielin, V. Zoete // *J. Chem. Inf. Model*. – 2014. – Vol.54. – №12. – P. 3284–3301. DOI: <https://doi.org/10.1021/ci500467k>
44. Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development / S.N. Politis, P. Colombo, G. Colombo, D.M. Rekkas // *Drug Development and Industrial Pharmacy*.

– 2017. – Vol.43. – №6. – P. 889–901. DOI:
<https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1291672>

45. Design of experiments and design space approaches in the pharmaceutical bioprocess optimization / A. Kasemiire, H.T. Avohou, C.D. Bleye [et al.] // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2021. – Vol.166. – P. 144–154. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.06.004>

46. Differential interactions of bacterial lipopolysaccharides with lipid membranes: implications for TRPA1-mediated chemosensation / J.B. Startek, K. Talavera, T. Voets [et al.] // *Sci Rep*. – 2018. – Vol.8. – №1. – P. 12010. DOI:
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-30534-2>

47. Direct Compaction Drug Product Process Modeling / Al. Russell, J. Strong, S. Garner [et al.] // *AAPS PharmSciTech*. – 2022. – Vol.23. – №1. – P. 67. DOI:
<https://doi.org/10.1208/s12249-021-02206-4>

48. El-Kattan, A.F. *Physicochemical and Biopharmaceutical Properties that Affect Drug Absorption of Compounds Absorbed by Passive Diffusion* / A.F. El-Kattan // *Oral Bioavailability Assessment*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2017. P. 139–171. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118916926.ch4>

49. EMA. ICH M9 on biopharmaceutics classification system based biowaivers - Scientific guideline [Electronic resource]: Text // European Medicines Agency. 2018. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers-scientific-guideline> (accessed: 07.02.2023).

50. EMA. ICH Q8 (R2) Pharmaceutical development [Electronic resource]: Text // European Medicines Agency. 2018. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q8-r2-pharmaceutical-development> (accessed: 07.06.2022).

51. EMA. ICH Q9 Quality risk management - Scientific guideline [Electronic resource]: Text // European Medicines Agency. 2018. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q9-quality-risk-management-scientific-guideline> (accessed: 13.02.2023).

52. Fast disintegrating tablets: Opportunity in drug delivery system / V. Parkash, S. Maan, Deepika [et al.] // J Adv Pharm Tech Res. – 2011. – Vol.2. – №4. – P. 223. DOI: <https://doi.org/10.4103/2231-4040.90877>

53. FDA Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System - ECA Academy [Electronic resource]. URL: <https://www.gmp-compliance.org/guidelines/gmp-guideline/fda-guidance-for-industry-waiver-of-in-vivo-bioavailability-and-bioequivalence-studies-for-immediate-release-solid-oral-dosage-f> (accessed: 07.02.2023)

54. Fulzele, S. Lyoc (Lyophilized Wafer): An orally disintegrating tablet technology / S. Fulzele, D.Moe, E. Hamed // Drug Development and Delivery. – 2012. – Vol.12. – P. 51–57.

55. García-Añoveros, J. TRPML2 and Mucolipin Evolution / J. García-Añoveros, T. Wiwatpanit // Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels / ed. Nilius B., Flockerzi V. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. – 2014. – Vol.222. – P. 647–658. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-54215-2_25

56. Ghourichay, M.P. Formulation and Quality Control of Orally Disintegrating Tablets (ODTs): Recent Advances and Perspectives / M.P. Ghourichay, S. H. Kiaie, A. Nokhodchi, Y. Javadzadeh // Biomed Res Int. – 2021. – Vol.2021. P. 1–12. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6618934>

57. HC-030031, a TRPA1 Selective Antagonist, Attenuates Inflammatory- and Neuropathy-Induced Mechanical Hypersensitivity / S.R. Eid, E.D. Crown, E.L. Moore [et al.] // Mol Pain. – 2008. – Vol.4. – P. 1744-8069. DOI: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-4-48>

58. Himmel, N.J. Transient receptor potential channels: current perspectives on evolution, structure, function and nomenclature / N.J. Himmel, D.N. Cox // Proc. R. Soc. B. – 2020. – Vol.287. – №1933. – P. 20201309. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.1309>

59. Influence of drug colour on perceived drug effects and efficacy / D. Tao, T. Wang, T. Wang, X. Qu // *Ergonomics*. – 2018. – Vol.61. – №2. – P. 284–294. DOI: <https://doi.org/10.1080/00140139.2017.1349935>
60. Influence of Process Parameters on Content Uniformity of a Low Dose Active Pharmaceutical Ingredient in a Tablet Formulation According to GMP / J. Muselík, A. Franc, P. Doležel [et al.] // *Acta Pharmaceutica*. – 2014. – Vol.64. – №3. – P. 355–367. DOI: <https://doi.org/10.2478/acph-2014-0022>
61. Inhibition of TRPA1 Promotes Cardiac Repair in Mice after Myocardial Infarction / R. Li, R. Liu, F. Yan [et al.] // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2019. – P.1. DOI: <https://doi.org/10.1097/fjc.0000000000000783>
62. International Union of Pharmacology. XLIX. Nomenclature and Structure-Function Relationships of Transient Receptor Potential Channels / D.E. Clapham, D. Julius, C. Montell [et al.] // *Pharmacol Rev*. – 2005. – Vol.57. – №4. – P. 427–450. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.57.4.6>
63. Investigation of biopharmaceutical drug properties suitable for orally disintegrating tablets / A. Ono, T. Tomono, T. Ogihara [et al.] // *ADMET DMPK*. – 2016. – Vol.4. – №4. – P. 335. DOI: <https://doi.org/10.5599/admet.4.4.338>
64. Involvement of TRPA1 Activation in Acute Pain Induced by Cadmium in Mice / S. Miura, K. Takahashi, T. Imagawa [et al.] // *Mol Pain*. – 2013. – Vol.9. – P. 1744–8069. DOI: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-9-7>
65. Jacob, S. Preparation and Evaluation of Fast-Disintegrating Effervescent Tablets of Glibenclamide / S. Jacob, A. Shirwaikar, A. Nair // *Drug development and industrial pharmacy*. – 2008. – Vol.35. – №3 – P. 321–328. DOI: <https://doi.org/10.1080/03639040802337021>
66. Jeong, S.H. Frosta[®]: a new technology for making fast-melting tablets / S.H. Jeong, Y. Fu, K. Park // *Expert Opinion on Drug Delivery*. – 2005. – Vol.2. – №6. – P. 1107–1116. DOI: <https://doi.org/10.1517/17425247.2.6.1107>
67. Kalyankar, P. Formulation Design and Optimization of Orodispersible Tablets of Quetiapine Fumarate by Sublimation Method / P. Panzade, P. Kalyankar, S.

Lahoti // *Indian J Pharm Sci.* – 2015. – Vol.77. – №3. – P. 267–273. DOI: <https://doi.org/10.4103/0250-474x.159605>

68. Köteles, F. The effect of perceptual characteristics of tablets upon patient's choice / F. Köteles, I. Komsa, G. Bárdos // *Clinical and Experimental Medical Journal.* – 2010. – Vol.4. – №1. – P. 99–104. DOI: <https://doi.org/10.1556/cemed.4.2010.1.10>

69. Kravchenko, A.D. Physicochemical Properties of a Phenyltetrahydroquinolinedione Derivative with TRPA1 Antagonist Activity / A.D. Kravchenko, N.V. Pyatigorskaya, N.S. Nikolenko // *Pharmaceutical Chemistry Journal.* – 2022. – Vol.56. – N4. – P. 522-526. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11094-022-02671-6>

70. Lagerlof, F. The Volume of Saliva in the Mouth Before and After Swallowing / F. Lagerlof, C. Dawes // *J Dent Res.* – 1984. – Vol.63. – №5. – P. 618–621. DOI: <https://doi.org/10.1177/00220345840630050201>

71. Li, J. Ankyrin Repeat: A Unique Motif Mediating Protein–Protein Interactions / J. Li, A. Mahajan, M.-D. Tsai // *Biochemistry.* – 2006. – Vol.45. – №51. – P. 15168–15178. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi062188q>

72. Malaak, F.A. Orodispersible Tablets: Novel Strategies and future challenges in Drug Delivery / F.A. Malaak, K.A. Zeid, S.A. Fouad, M.A. El-Nabarawi // *Research Journal of Pharmacy and Technology.* – 2019. – Vol.12. – №11. – P. 5575–5582. DOI: <https://doi.org/10.5958/0974-360x.2019.00966.1>

73. Malvey, S. Formulation and Evaluation of Acyclovir Orodispersible Tablets Using Sublimation Method / S. Malvey, N. Kshirasagar // *J Gen Pract.* – 2015. – Vol.03. – №04. DOI: <https://doi.org/10.4172/2329-9126.1000208>

74. Mammalian Transient Receptor Potential TRPA1 Channels: From Structure to Disease / K. Talavera, J.B. Startek, J. Alvarez-Collazo [et al.] // *Physiological Reviews.* – 2020. – Vol.100. – №2. – P. 725–803. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00005.2019>

75. Meents, J.E. Agonist-induced sensitisation of the irritant receptor ion channel TRPA1: Agonist-induced sensitisation of TRPA1 / J.E. Meents, M.J.M.

Fischer, P.A. McNaughton // J Physiol. – 2016. – Vol.594. – №22. – P. 6643–6660.
DOI: <https://doi.org/10.1113/jp272237>

76. Meents, J.E. TRPA1: a molecular view / J.E. Meents, C.I. Ciotu, M.J.M. Fischer // Journal of Neurophysiology. – 2019. – Vol.121. – №2. – P. 427–443. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00524.2018>

77. Minke, B. The History of the *Drosophila* TRP Channel: The Birth of a New Channel Superfamily / B. Minke // Journal of Neurogenetics. – 2010. – Vol.24. – №4. – P. 216–233. DOI: <https://doi.org/10.3109/01677063.2010.514369>

78. Molecular Determinants of Species-Specific Activation or Blockade of TRPA1 Channels / J. Chen, X.-F. Zhang, M.E. Kort [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2008. – Vol.28. – №19. – P. 5063–5071. DOI: <https://doi.org/10.1523/jneurosci.0047-08.2008>

79. Moran, M.M. TRP Channels as Potential Drug Targets / M. Moran // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2018. – Vol.58. – №1. – P. 309–330. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010617-052832>

80. Mukaiyama, M. Non-electrophilic TRPA1 agonists, menthol, carvacrol and clotrimazole, open epithelial tight junctions via TRPA1 activation / M. Mukaiyama, T. Usui, Y. Nagumo // The Journal of Biochemistry. – 2020. – Vol.168. – №4. – P. 407–415. DOI: <https://doi.org/10.1093/jb/mvaa057>

81. Nazıroğlu, M. Thermo-Sensitive TRP Channels: Novel Targets for Treating Chemotherapy-Induced Peripheral Pain / M. Nazıroğlu, N. Braidı // Front. Physiol. – 2017. – Vol.8. – P. 1040. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01040>

82. New method of preparing high-porosity rapidly saliva soluble compressed tablets using mannitol with camphor, a subliming material / K. Koizumi, Y. Watanabe, K. Morita [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 1997. – Vol. 152. – № 1. – P. 127–131. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-5173\(97\)04924-7](https://doi.org/10.1016/s0378-5173(97)04924-7)

83. Orally Disintegrating Systems: Innovations in Formulation and Technology / H. Goel, P. Rai, V. Rana, A. Tiwary // DDF. – 2008. – Vol.2. – №3. – P. 258–274. DOI: <https://doi.org/10.2174/187221108786241660>

84. Orally Disintegrating Tablets [Electronic resource] // U.S. Food and Drug Administration. FDA. – URL: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/orally-disintegrating-tablets> (accessed: 01.02.2023).

85. Orodispersible dosage forms: biopharmaceutical improvements and regulatory requirements / F. Cilurzo, U.M. Musazzi, S. Franzé [et al.] // *Drug Discovery Today*. – 2018. – Vol.23. – №2. – P. 251–259. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.10.003>

86. Patent US20050232988A1. Orally disintegrating tablets and methods of manufacture: app. 19.04.2004; pub. 20.10.2005 / G.M. Venkatesh, K.K. Qian, S. Vangala [et al.]; assignee Adare Pharmaceuticals Inc. – Текст : электронный // Patents.google.com : site. – URL: <https://patents.google.com/patent/US20050232988A1/en> (дата обращения: 26.05.2023). – Режим доступа : свободный.

87. Patent US5976577A. Process for preparing fast dispersing solid oral dosage form: app. 11.07.1997; pub. 02.11.1999 / Green R., Kearney P; assignee Catalent Pharma Solutions LLC. – Текст : электронный // Patents.google.com : site. – URL: <https://patents.google.com/patent/US5976577A/en?q=US5976577A> (дата обращения: 26.05.2023). – Режим доступа : свободный.

88. Patent WO/2018/109155. Trpa1 Antagonists for Use in the Treatment of Atopic Dermatitis : app. 15.12.2017 ; pub. 23.10.2019 / Ouvry G., Hacini-Rachinel F., Nonne C.; assignee Galderma. – Текст : электронный // patentscope.wipo.int : site. – URL: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?jsessionid=C400D10001561669CB2C776B45152CF5.wapp1nA?docId=EP260713981&_cid=P10-KK3SPU-81876-25 (дата обращения 25.05.2023). – Режим доступа : свободный.

89. Peng, G. Evolution of TRP channels inferred by their classification in diverse animal species / G. Peng, X. Shi, T. Kadowaki // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2015. – Vol.84. – P. 145–157. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.06.016>

90. Preeti. An overview on mouth dissolving tablet: from manufacturing and patented technique to quality control test / Preeti, V. Agarwal, A. Agarwal // *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. – 2022. – P. 7–13. DOI: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2022.v15i11.46555>
91. Preparation of Orally Disintegrating Tablets with Taste-masking Function: Masking Effect in Granules Prepared with Correctives Using the Dry Granulation Method and Evaluation of Tablets Prepared Using the Taste-masked Granules / Y. Kawano, A. Ito, M. Sasatsu, Y. Machida // *YAKUGAKU ZASSHI*. – 2010. – Vol.130. – №1. – P. 81–86. DOI: <https://doi.org/10.1248/yakushi.130.81>
92. Presumptive TRP channel CED-11 promotes cell volume decrease and facilitates degradation of apoptotic cells in *Caenorhabditis elegans* / K. Driscoll, G.M. Stanfield, R. Droste [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2017. – Vol. 114. – № 33. – P. 8806–8811. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1705084114>
93. Proximal C-Terminus Serves as a Signaling Hub for TRPA1 Channel Regulation via Its Interacting Molecules and Supramolecular Complexes / L. Zimova, K. Barvikova, L. Macikova [et al.] // *Front. Physiol.* – 2020. – Vol.11. – P. 189. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00189>
94. Roles of cutaneous versus spinal TRPA1 channels in mechanical hypersensitivity in the diabetic or mustard oil-treated non-diabetic rat / H. Wei, H. Chapman, M. Saarnilehto [et al.] // *Neuropharmacology*. – 2010. – Vol.58. – №3. – P. 578–584. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.12.001>
95. Rowe, R.C. Handbook of Pharmaceutical Excipients / R.C. Rowe, P.J. Sheskey, S.C. Owen // Pharmaceutical Press – 2006. – 992 p.
96. Samanta, A. Transient Receptor Potential (TRP) Channels / A. Samanta, T.E.T. Hughes, V.Y. Moiseenkova-Bell // *Membrane Protein Complexes: Structure and Function* / ed. Harris J.R., Boekema E.J. Singapore: Springer Singapore. – 2018. – Vol.87. – P. 141–165. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-10-7757-9_6
97. Sharma, S. Oral Disintegrating Tablets – An Updated Patent Perspective / S. Sharma, K. Singh // *Recent Pat Drug Deliv Formul.* – 2020. – Vol.14. – №3. – P. 166–190. DOI: <https://doi.org/10.2174/1872211314999201123202930>

98. Shibasaki, K. Physiological significance of TRPV2 as a mechanosensor, thermosensor and lipid sensor / K. Shibasaki // *J Physiol Sci.* – 2016. – Vol.66. – №5. – P. 359–365. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12576-016-0434-7>
99. Shukla, D. Mouth Dissolving Tablets I: An Overview of Formulation Technology / D. Shukla // *Sci. Pharm.* – 2009. – Vol.77. – №2. – P. 309–326. DOI: <https://doi.org/10.3797/scipharm.0811-09-01>
100. Slavkova, M. Orodispersible drug formulations for children and elderly / M. Slavkova, J. Breitkreutz // *Eur J Pharm Sci.* – 2015. – Vol.75. – P. 2–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.02.015>
101. Smith, D.D.J. Chapter 10 - Risk Assessment (QRA) / D.D.J. Smith // *Reliability, Maintainability and Risk* / ed. Smith D.D.J. Butterworth-Heinemann. – 2022. – P. 169–192. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91261-7.00005-8>
102. Spinal transient receptor potential ankyrin 1 channel contributes to central pain hypersensitivity in various pathophysiological conditions in the rat / H. Wei, A. Koivisto, M. Saarnilehto [et al.] // *Pain.* – 2011. – Vol.152. – №3. – P. 582–591. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.11.031>
103. Structural Insights into Electrophile Irritant Sensing by the Human TRPA1 Channel / Y. Suo, Z. Wang, L. Zubcevic [et al.] // *Neuron.* – 2020. – Vol.105. – №5. – P. 882-894.e5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.11.023>
104. Structure confirmation and enantiomeric composition of a phenyltetrahydroquinolinedione derivative with trpa1-antagonistic activity / N.V. Pyatigorskaya, G.E. Brkich, A.D. Kravchenko, S.N. Kovalenko // *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry.* – 2022. – Vol.25. – №7. – P. 31–38. DOI: <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-07-05>
105. Structure of the human PKD1-PKD2 complex / Q. Su, F. Hu, X. Ge [et al.] // *Science.* – 2018. – Vol.361. – №6406. – P. eaat9819. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aat9819>
106. Structure of the polycystic kidney disease TRP channel Polycystin-2 (PC2) / M. Grieben, A.C.W. Pike, C.A. Shintre [et al.] // *Nat Struct Mol Biol.* – 2017. – Vol.24. – №2. – P. 114–122. DOI: <https://doi.org/10.1038/nsmb.3343>

107. Structure of the TRPA1 ion channel suggests regulatory mechanisms / C.E. Paulsen, J.-P. Armache, Y. Gao [et al.] // *Nature*. – 2015. – Vol.520. – №7548. – P. 511–517. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14367>
108. Structure–function relationship of the TRP channel superfamily / G. Owsianik, D. D'hoedt, T. Voets [et al.] // *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* / ed. Amara S.G. et al. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. – 2006. – P. 61–90. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10254-005-0006-0>
109. Synthesis, molecular docking, ADMET study and in vitro pharmacological research of 7-(2-chlorophenyl)-4-(4-methylthiazol-5-yl)-4,6,7,8-tetrahydroquinoline-2,5(1H,3H)-dione as a promising non-opioid analgesic drug / A.D. Kravchenko, N.V. Pyatigorskaya, G.E. Brkich [et al.] // *Research Results in Pharmacology*. – 2022. – Vol.8. – №1. – P. 1–11. DOI: <https://doi.org/10.3897/rrpharmacology.8.80504>
110. Takahashi, N. TRP Channels as Sensors and Signal Integrators of Redox Status Changes / N. Takahashi, Y. Mori // *Front. Pharmacol.* – 2011. – Vol.2. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2011.00058>
111. Target product profiles [Electronic resource]. URL: <https://www.who.int/observatories/global-observatory-on-health-research-and-development/analyses-and-syntheses/target-product-profile/who-target-product-profiles> (accessed: 07.06.2022).
112. The Bile Acid Receptor TGR5 Activates the TRPA1 Channel to Induce Itch in Mice / T. Lieu, G. Jayaweera, P. Zhao [et al.] // *Gastroenterology*. – 2014. – Vol.147. – №6. – P. 1417–1428 DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.08.042>
113. The contribution of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) to the in vivo nociceptive effects of prostaglandin E2 / M.C. Dall'Acqua, I.J.M. Bonet, A.R. Zampronio [et al.] // *Life Sciences*. – 2014. – Vol.105. – №1–2. – P. 7–13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.02.031>
114. The Effects of Polymorphism on Physicochemical Properties and Pharmacodynamics of Solid Drugs / Y. Zhou, J. Wang, Y. Xiao [et al.] // *Curr Pharm Des.* – 2018. – Vol.24. – №21. – P. 2375–2382. DOI: <https://doi.org/10.2174/1381612824666180515155425>

115. The novel TRPA1 antagonist BI01305834 inhibits ovalbumin-induced bronchoconstriction in guinea pigs / M.P.M. van den Berg, S. Nijboer-Brinksma, I.S.T. Bos [et al.] // *Respir Res.* – 2021. – Vol.22. – №1. – P. 48. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12931-021-01638-7>
116. The Rise and Fall of TRP-N, an Ancient Family of Mechanogated Ion Channels, in Metazoa / A. Schüler, G. Schmitz, A. Reft [et al.] // *Genome Biol Evol.* – 2015. – Vol. 7. – № 6. – P. 1713–1727. DOI: <https://doi.org/10.1093/gbe/evv091>
117. The Transient Receptor Potential (TRP) Channel Family in *Colletotrichum graminicola*: A Molecular and Physiological Analysis / M. Lange, F. Weihmann, I. Schliebner [et al.] // *PLoS ONE* / ed. Obukhov A.G. – 2016. – Vol. 11. – № 6. – P. e0158561. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158561>
118. Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Receptor Activation In Vitro and In Vivo by Pro-tussive Agents: GRC 17536 as a Promising Anti-Tussive Therapeutic / I. Mukhopadhyay, A. Kulkarni, S. Aranake [et al.] // *PLoS ONE.* – 2014. – Vol.9. – №5. – P. e97005. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097005>
119. Transient receptor potential Ankyrin 1: structure, function and ligands / N.V. Pyatigorskaya, O.V. Filippova, N.S. Nikolenko, A.D. Kravchenko // *Research Results in Pharmacology.* – 2022. – Vol.8. – №3. – P. 19–29. DOI: <https://doi.org/10.3897/rrpharmacology.8.90214>
120. Transient Receptor Potential Canonical (TRPC) Channels: Then and Now / X. Chen, G. Sook, I.S. Demaree [et al.] // *Cells.* – 2020. – Vol.9. – №9. – P. 1983. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9091983>
121. Transient Receptor Potential Cation Channels in Disease / B. Nilius, G. Owsianik, T. Voets [et al.] // *Physiological Reviews.* – 2007. – Vol.87. – №1. – P. 165–217. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2006>
122. TRPC channels: Structure, function, regulation and recent advances in small molecular probes / H. Wang, X. Cheng, J. Tian [et al.] // *Pharmacology & Therapeutics.* – 2020. – Vol.209. – P. 107497. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107497>

123. TRPM Channels in Human Diseases / I. Jimenez, Y. Prado, F. Marchant [et al.] // *Cells*. – 2020. – Vol.9. – №12. – P. 2604. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9122604>

124. TRPM Family Channels in Cancer / A. Hantute-Ghesquier, A. Haustrate, N. Prevarskaya [et al.] // *Pharmaceuticals*. – 2018. – Vol.11. – №2. – P. 58. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph11020058>

125. TRPV1 and TRPA1 in cutaneous neurogenic and chronic inflammation: pro-inflammatory response induced by their activation and their sensitization / O. Gouin, K. L’Herondelle, N. Lebonvallet [et al.] // *Protein Cell*. – 2017. – Vol. 8. – № 9. – P. 644–661 DOI: <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0395-5>

126. TRPV1: Structure, Endogenous Agonists, and Mechanisms / M. Benítez-Angeles, S.L. Morales-Lázaro, E. Juárez-González [et al.] // *IJMS*. – 2020. – Vol. 21. – № 10. – P. 3421. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21103421>

127. TRPV3 in Drug Development / L. Broad, A. Mogg, E. Eberle [et al.] // *Pharmaceuticals*. – 2016. – Vol.9. – №3. – P. 55. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph9030055>

128. TRS 1019 - Annex 4: Protocol to conduct equilibrium solubility experiments for the purpose of Biopharmaceutics Classification System-based classification of active pharmaceutical ingredients for biowaiver [Electronic resource]. URL: <https://www.who.int/publications/m/item/annex-4-trs-1019> (accessed: 07.02.2023)


129. Varshosaz, J. Crystal Engineering for Enhanced Solubility and Bioavailability of Poorly Soluble Drugs / J. Varshosaz, E. Ghassami, S. Ahmadipour // *Curr Pharm Des*. – 2018. – Vol.24. – №21. – P. 2473–2496. DOI: <https://doi.org/10.2174/1381612824666180712104447>

130. Vishali, T. Orodispersible Tablets: A Review / T. Vishali, N. Damodharan // *Research Journal of Pharmacy and Technology*. – 2020. – Vol.13. – №5. – P. 2522–2529. DOI: <https://doi.org/10.5958/0974-360x.2020.00449.7>

131. Wiedey, R. Orodispersible tablets for pediatric drug delivery: current challenges and recent advances / R. Wiedey, M. Kokott, J. Breitreutz // *Expert Opinion*

on Drug Delivery. – 2021. – Vol.18. – №12. – P. 1873–1890. DOI:
<https://doi.org/10.1080/17425247.2021.2011856>

ПРИЛОЖЕНИЕ А

	<p align="center"><i>Акционерное общество</i> АО «МираксБиоФарма»</p>
	<p align="center">Юридический адрес: 121059, г. Москва, ул. Брянская, д. 5 Адрес производства: М.О., г. Химки, ул. Рабочая, 2А, стр.1</p>

Исх. № 2023-02-28/02
от 28.02.2023г.

Утверждаю
 Генеральный директор
 АО «МираксБиоФарма»
 Друх В.М.

 подпись
 28.02.2023 г.

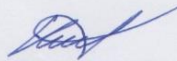


 дата

АКТ


о внедрении результатов научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся, входящие в комиссию представителей АО «МираксБиоФарма», Россия: начальник производства Киселев А.П., главный технолог Кузнецов Г.А., исполнительный директор Кузьмин А.Ю. составили настоящий акт о проведении апробации в условиях производства технологии получения лекарственного средства «Таблетки, диспергируемые в полости рта, производного ФТГХД с TRPA1-антагонистической активностью» по ЛР № 13353384-011-2023. Данное предложение было разработано в ходе выполнения научно-исследовательской работы по теме: «Разработка состава и технологии получения твердой лекарственной формы на основе производного фенилтетрагидрохинолиндиона из группы селективных блокаторов TRPA1» в условиях и на производственной площадке АО «МираксБиоФарма», Россия.

Лабораторный регламент на лекарственное средство «Таблетки, диспергируемые в полости рта, производного ФТГХД с TRPA1-антагонистической активностью» может быть рекомендован к внедрению на производственной площадке АО «МираксБиоФарма», Россия.

_____ Начальник производства должность	_____  подпись	_____ Киселев А.П. расшифровка
_____ Главный технолог должность	_____  подпись	_____ Кузнецов Г.А. расшифровка
_____ Исполнительный директор должность	_____  подпись	_____ Кузьмин А.Ю. расшифровка

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

	Акционерное общество АО «МираксБиоФарма»
	Юридический адрес: 121059, г. Москва, ул. Брянская, д. 5
	Адрес производства: М.О., г. Химки, ул. Рабочая, 2А, стр.1

Исх. № 2023-02-28/01
от 28.02.2023г.

Утверждаю

Генеральный директор
АО «МираксБиоФарма»

Друх В.М.



подпись

28.02.2023 г.

дата

АКТ

о внедрении результатов научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся, входящие в комиссию представителей АО «МираксБиоФарма», Россия: директор по качеству Новоселова Т.А., начальник контрольно-аналитической лаборатории Бувина Е.Ю., старший химик Меренкова Ю.А. составили настоящий акт о проведении апробации аналитических методик контроля качества лекарственного средства «Таблетки, диспергируемые в полости рта, производного ФТГХД с TRPA1-антагонистической активностью» по проекту нормативного документа по качеству. Данное предложение было разработано в ходе выполнения научно-исследовательской работы по теме: «Разработка состава и технологии получения твердой лекарственной формы на основе производного фенилтетрагидрохинолиндиона из группы селективных блокаторов TRPA1» в условиях контрольно-аналитической лаборатории АО «МираксБиоФарма», Россия.

Проект нормативного документа по качеству лекарственного средства «Таблетки, диспергируемые в полости рта, производного ФТГХД с TRPA1-антагонистической активностью» может быть рекомендован к внедрению на производственной площадке АО «МираксБиоФарма», Россия.

Директор по качеству

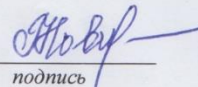
должность

Начальник контрольно-аналитической лаборатории

должность

Старший химик

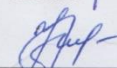
должность



подпись

Новоселова Т.А.

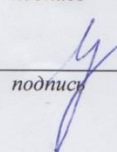
расшифровка



подпись

Бувина Е.Ю.

расшифровка



подпись

Меренкова Ю.А.

расшифровка

ПРИЛОЖЕНИЕ В

СОГЛАСОВАН

УТВЕРЖДЕН

«___» _____ 20__ г.

«___» _____ 20__ г.

М.П.

М.П.

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ ПО КАЧЕСТВУ

Торговое наименование (торговые наименования) лекарственного препарата:

TRPA1Химическое наименование: 7-(2-хлорофенил)-4-(4-метил-1,3-тиазол-5-ил)-4,6,7,8-тетрагидрохинолин-2,5(1H,3H)-дион

(при его отсутствии – общепринятое (группировочное) наименование, при отсутствии последнего – химическое наименование)

Лекарственная форма: таблетки, диспергируемые в полости ртаДозировка: 10 мгДержатель регистрационного удостоверения: АО «МираксБиоФарма»,Россия

(наименование держателя регистрационного удостоверения и государства его регистрации (места нахождения))

Номер и дата нормативного документа: _____

(номер и дата регистрационного удостоверения, выданного референтным государством)

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебно-воспитательной работе
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)



Т.М. Литвинова

2023 г.

АКТ

внедрения в учебный процесс
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
результатов диссертационного исследования Кравченко Алексея Дмитриевича на тему:
«Разработка состава и технологии получения твердой лекарственной формы на основе
производного фенилтетрагидрохинолиндииона из группы селективных блокаторов TRPA1»

Мы, нижеподписавшиеся, д.ф.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедры Промышленной фармации ИПО Пятигорская Наталья Валерьевна; академик РАН, д.т.н., профессор кафедры Промышленной фармации ИПО Береговых Валерий Васильевич; д.ф.н., доцент кафедры Промышленной фармации ИПО Бркич Галина Эдуардовна удостоверяем факт внедрения результатов научной работы Кравченко А.Д. в учебный процесс кафедры Промышленной фармации ИПО ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Материалы исследования используются при чтении лекций и проведении семинаров для студентов магистратуры промышленная фармация и при подготовке учебных материалов для слушателей курсов дополнительного профессионального образования.

д.ф.н., профессор, член-корреспондент РАН,
заведующий кафедры Промышленной
фармации ИПО

Н.В. Пятигорская

академик РАН, д.т.н., профессор кафедры
Промышленной фармации ИПО

В.В. Береговых

д.ф.н., доцент кафедры Промышленной
фармации ИПО

Г.Э. Бркич

к.м.н., начальник Учебного управления

Л.Ю. Юдина