

Изучение технологических свойств и биофармацевтической растворимости производного фенилтетрагидрохинолиндина с TRPA1-антагонистической активностью

Н.В. Пятигорская, Н.С. Николенко, А.Д. Кравченко
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),
Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пятигорская Наталья Валерьевна – заместитель директора Института трансляционной медицины и биотехнологии, заведующий кафедрой промышленной фармации Института профессионального образования, доктор фармацевтических наук, профессор. Тел.: +7 (916) 123-33-94. E-mail: pyatigorskaya_n_v@staff.sechenov.ru. ORCID: 0000-0003-4901-4625

Наталья Сергеевна Николенко – старший преподаватель кафедры Промышленной фармации Института профессионального образования, кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (909) 660-89-60. E-mail: nikolenko_n_s@staff.sechenov.ru. ORCID: 0000-0001-5567-8570

Кравченко Алексей Дмитриевич – аспирант кафедры Промышленной фармации Института профессионального образования. Тел.: +7 (916) 698-06-69. E-mail: aleksej_kravchenko97@mail.ru. ORCID: 0000-0001-6476-0138

РЕЗЮМЕ

Введение. В соответствии с принципами, заложенными в руководстве ICH Q8, для посерийного производства лекарственного препарата должны быть изучены критические параметры его компонентов, способные влиять на качество готового продукта. К подобным параметрам относятся технологические и биофармацевтические свойства активной фармацевтической субстанции.

Цель работы: изучение технологических свойств и биофармацевтической растворимости производного фенилтетрагидрохинолиндина – антагониста TRPA1 для разработки твердой лекарственной формы (ЛФ) на его основе.

Материал и методы. Сыпучесть и угол естественного откоса определяли с помощью тестера сыпучести Erweka GTL. Насыпной объем до и после уплотнения устанавливали с помощью тестера насыпной плотности ETD-1020. Равновесную биофармацевтическую растворимость определяли на тестере для проведения испытания «Растворение» DT 626/1000 НН. Количество перешедшего в раствор вещества определяли на УФ-спектрофотометре Agilent 8453.

Результаты. Сыпучесть для воронки диаметром 25 мм составила $18,68 \pm 1,15$ г/с, соответствующий угол естественного откоса – $46,37 \pm 2,04^\circ$, коэффициент прессуемости и Хауснера – $31,83 \pm 1,33\%$, и $1,47 \pm 0,09$ Ед соответственно. Ни при одном значении pH рассчитанная терапевтическая доза вещества не растворялась полностью в 250 мл среды. Биофармацевтические растворимости при pH 1,2, 4,5 и 6,8 составили $26,64 \pm 1,36$; $2,72 \pm 0,15$ и $3,8 \pm 0,21$ мкг/мл соответственно.

Заключение. Данные о технологических свойствах позволяют сделать вывод о необходимости применения метода грануляции или использования вспомогательных веществ для прямого прессования, а профиль растворения изучаемого вещества позволяют отнести его ко II или IV классу биофармацевтической классификационной системы, в связи с чем разработка ЛФ должна быть направлена на увеличение растворимости или проницаемости субстанции.

Ключевые слова: фармацевтическая разработка, антагонист TRPA1, биофармацевтическая классификационная система.

Для цитирования: Пятигорская Н.В., Николенко Н.С., Кравченко А.Д. Изучение технологических свойств и биофармацевтической растворимости производного фенилтетрагидрохинолиндина с TRPA1-антагонистической активностью. Фармация, 2022; 71 (3): 42–47. <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-03-07>

THE STUDY OF TECHNOLOGICAL PROPERTIES AND BIOPHARMACEUTICAL SOLUBILITY OF PHENYLTETRAHYDROQUINOLINEDIONE DERIVATIVE WITH TRPA1-ANTAGONISTIC ACTIVITY

N.V. Pyatigorskaya, N.S. Nikolenko, A.D. Kravchenko

Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), st. Trubetskaya, 8, bldg. 2, Moscow, 119991, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Pyatigorskaya Natal'ya Valer'evna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Deputy Director of the Institute of Translational Medicine and Biotechnology, Head of the Department of Industrial Pharmacy, Institute of Vocational Education. Тел.: +7 (916) 123-33-94. E-mail: pyatigorskaya_n_v@staff.sechenov.ru. ORCID: 0000-0003-4901-4625

Nikolenko Natal'ya Sergeevna – Candidate of Pharmaceutical Sciences, senior lecturer, Department of Industrial Pharmacy, Institute of Vocational Education. Tel.: +7 (909) 660-89-60. E-mail: nikolenko_n_s@staff.sechenov.ru. *ORCID: 0000-0001-5567-8570*

Kravchenko Aleksei Dmitrievich – post-graduate student of the Department of Industrial Pharmacy, Institute of Vocational Education. Tel.: +7 (916) 698-06-69. E-mail: aleksej_kravchenko97@mail.ru. *ORCID: 0000-0001-6476-0138*

SUMMARY

Introduction. In accordance with the principles described in ICH Q8 guideline, the critical characteristics of the components of a dosage form that can affect its quality should be studied before the serial production of a drug. Such parameters include technological properties and biopharmaceutical solubility of an active pharmaceutical ingredient.

Objective: to investigate the technological properties and biopharmaceutical solubility of the original substance of a phenyltetrahydroquinolinedione derivative – TRPA1 antagonist in order to develop a solid dosage form based on it.

Material and methods. Flowability and angle of repose were determined using an Erweka GTL flow tester. The bulk volume before and after compaction was determined using an ETD-1020 bulk density tester. Equilibrium biopharmaceutical solubility was determined using dissolution tester DT 626/1000 HH. The dissolved quantity of the substance was determined using Agilent 8453 UV spectrophotometer.

Results. The flowability was 18.68 ± 1.15 g/s (25 mm funnel); the angle of repose was $46.37 \pm 2.04^\circ$, the compressibility index and the Hausner ratio were $31.83 \pm 1.33\%$ and 1.47 ± 0.09 units, respectively. The calculated therapeutic dose did not completely dissolve in 250 ml of the medium at any pH value. The biopharmaceutical solubility at pH 1.2 was 26.64 ± 1.36 µg/ml, at pH 4.5 – 2.72 ± 0.15 µg/ml, at pH 6.8 – 3.8 ± 0.21 µg/ml.

Conclusion. According to the results the following conclusions can be made: it is necessary to use the granulation method or to use the excipients for direct compression; the dissolution profile of the substance allows us to attribute it to class II or IV of the biopharmaceutical classification system, so the development of the dosage form of this substance should be aimed at increasing its solubility or solubility and permeability.

Key words: pharmaceutical development, TRPA1 antagonist, BCS.

For reference: Pyatigorskaya N.V., Nikolenko N.S., Kravchenko A.D. The study of technological properties and biopharmaceutical solubility of phenyltetrahydroquinolinedione derivative with TRPA1-antagonistic activity. *Farmatsiya*, 2022; 71 (3): 42–47. <https://doi.org/10/29296/25419218-2022-03-07>

Введение

В соответствии с руководством ICH Q8 «Фармацевтическая разработка» основная цель фармацевтической разработки – создание лекарственного препарата и разработка такого процесса его получения, с помощью которого возможно на постоянной основе производить продукт с неизменными заданными свойствами, находящимися в установленных диапазонах. Для достижения данной цели необходимо обеспечить научно обоснованный подход к выбору состава и технологии получения лекарственной формы (ЛФ), а также глубокое понимание свойств ее компонентов. Важнейшим начальным этапом разработки лекарственного препарата, входящим в комплекс предварительных исследований компонентов ЛФ (preformulation studies), является изучение физико-химических, технологических и биофармацевтических свойств новой активной фармацевтической субстанции (АФС) [1]. Важность данного этапа разработки определяется тем фактом, что большинство проблем в технологии ЛФ определяется природой АФС.

Изучаемая АФС на основе 7-(2-хлорофенил)-4-(4-метил-1,3-тиазол-5-ил)-4,6,7,8-тетрагидрохинолин-2,5(1H,3H)-диона является новым селективным антагонистом рецепторов TRPA1. Результаты, полученные в доклинических исследованиях, позво-

ляют сделать вывод, что указанное производное фенилтетрагидрохинолиндииона может стать перспективным инновационным анальгетическим и противовоспалительным средством [2].

Поскольку лекарственные средства из указанных терапевтических группы предназначены для широкого круга потребителей, была поставлена цель разработать удобную в применении твердую ЛФ для приема внутрь на основе данной АФС. В фармацевтической разработке твердых ЛФ существенное значение имеют технологические свойства АФС, а также класс биофармацевтической классификационной системы (БКС). Такие фармацевтико-технологические показатели, как сыпучесть и прессуемость, могут существенно влиять на критические показатели качества лекарственного препарата и следовательно, должны нормироваться при осуществлении входного контроля фармацевтической субстанции, а также могут быть использованы при обосновании выбора технологии получения и состава лекарственного препарата [3]. Биофармацевтическая растворимость (БФР), наряду с кишечной проницаемостью, относится к биофармацевтическим свойствам субстанции, определяющим класс БКС. Знание о принадлежности субстанции к тому или иному классу БКС позволяет решить многие задачи, возникающие при фармацевтической разработке

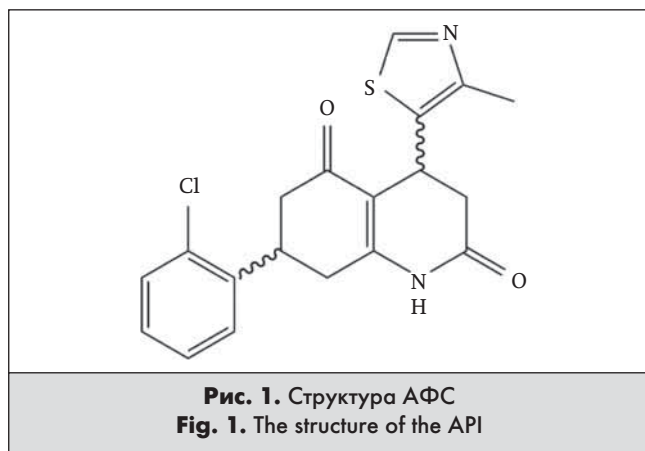
как оригинальных, так и воспроизведенным лекарственных препаратов, в частности, при выборе ЛФ, подхода к ее получению и применению тех или иных вспомогательных веществ, влияющих на растворимость и(или) кишечную проницаемость АФС [4, 5]. БФР чаще всего определяется при встряхивании в течение 24–72 ч в термостатируемом шейкере, но также может быть установлена другими методами, моделирующими поведение субстанции в желудочно-кишечном тракте, например с помощью тестера растворения при высоких оборотах, обеспечивающих быстрое насыщение раствора, как правило, в течение 2–4 ч [6, 7]. Для отнесения АФС к высоко растворимым ее БФР должна быть не менее наименьшей концентрации высшей терапевтической дозы в 250 мл для не менее 3 сред, рН которых находится в диапазоне от 1,2 до 6,8 [8, 9]. Для изучаемой субстанции рассчитанная терапевтическая доза составляет 10 мг, что соответствует разделяющей концентрации равной 0,04 мг/мл [10].

Таким образом, целью данной работы является изучение технологических свойств и БФР оригинальной АФС с TRPA1-антагонистической активностью с целью разработки ЛФ на ее основе.

Материал и методы

Объектом исследования являлись образцы 3 серий АФС, полученные согласно методике, описанной в [11]. Структурная формула изучаемого соединения представлена на рис. 1.

Технологические свойства. Комплексную фармацевтико-технологическую характеристику порошка АФС – степень сыпучести – определяли согласно ГФ РФ, ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков». Сыпучесть и угол естественного откоса устанавливали 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. Насыпной объем до и после уплотнения определяли с помощью тестера насыпной плотности ETD-1020 (Electrolab, Индия). Испытание проводили, помещая 50,0 мл образца субстанции в цилиндр на 100,0 мл и производя 10, 500 и 1250 соскоков, определяя соответствующие объемы (V_{10} , V_{500} , V_{1250}). Способность порошка к уплотнению (ΔV) оценивали как разность между V_{10} и V_{500} . Насыпную плотность рассчитывали по формуле (1):

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

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 (КП, %) рассчитывали с помощью уравнения (2):

$$\text{КП} = \frac{V_0 - V_1}{V_0} \times 100\% \quad (2),$$

Коэффициент Хауснера (HR) рассчитывали по формуле (3):

$$\text{HR} = \frac{\rho_1}{\rho_0} \quad (3),$$

Биофармацевтические свойства. В процессе установления БФР использовали следующие растворы и реактивы:

- раствор с рН 1,2 (в колбе на 1000 мл растворяли 2,52 г натрия хлорида в 900 мл воды очищенной, доводили рН до значения $1,2 \pm 0,05$ кислотой хлористоводородной 36% и доводили объем водой очищенной до метки);
- буферный раствор с рН 4,5 (в колбе на 1000 мл растворяли 4,96 г натрия ацетата тригидрата в 900 мл, доводили рН до $4,5 \pm 0,05$ кислотой уксусной ледяной и доводили объем водой очищенной до метки);
- буферный раствор с рН 6,8 (в колбе на 1000 мл растворяли 8,97 г натрия дигидрофосфата дигидрата и 0,90 г натрия гидроксида в 800 мл воды очищенной, доводили рН до $6,8 \pm 0,05$ натрия гидроксидом и доводили объем водой очищенной до метки).

Равновесную БФР определяли на 3 сериях в 2 повторностях с помощью тестера для проведе-

ния испытания «Растворение» DT 626/1000 НН (Erweka, Германия), аппарат II «Лопастная мешалка» при 200 об/мин в 3 средах: раствор с рН 1,2, ацетатный буфер с рН 4,5 и фосфатный буфер с рН 6,8. При проведении исследования наливали по 500 мл среды в каждый сосуд, включали лопастную мешалку и термостатировали до установления температуры растворов в диапазоне $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. В каждый сосуд одновременно помещали по 20 мг субстанции и включали таймер. Через 15, 30, 60, 120 и 240 мин обирали пробы по 5 мл вручную и фильтровали через мембранный фильтр в виалы. Количество перешедшего в раствор вещества определяли спектрофотометрически на УФ-спектрофотометре Agilent 8453 (Agilent Technologies, США) при 293 нм и длине кюветы 10 мм. Типичный УФ-спектр изучаемой субстанции представлен на рис. 2. В качестве растворов сравнения использовали растворы с соответствующими рН. Для проверки пригодности выбранного метода количественного определения были построены калибровочные графики с целью установления линейности зависимости оптической плотности от концентрации раствора АФС. Определение концентраций вещества в отобранных образцах проводили с использованием стандартных растворов с соответствующими значениями рН. Расчет концентраций испытуемых образцов (C , мг/мл) проводили с помощью уравнения (4).

$$C = \frac{C_0 \times A}{A_0} \quad (4),$$

где C_0 – концентрация стандартного раствора, равная 0,004 мг/мл; A – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность стандартного раствора.

Результаты и обсуждение

Технологические свойства. При определении сыпучести было установлено, что образцы всех серий не обладают сыпучестью при использовании воронок диаметром 10 и 15 мм, сыпучесть из 25 мм воронки составила $18,68 \pm 1,15$ г/с, а соответствующий угол естественного откоса был равен $46,37 \pm 2,04^\circ$, из чего согласно ГФ РФ, ОФС.1.4.2.0016.15 можно сделать вывод, что АФС обладает неудовлетворительными показателями сыпучести. Результаты измерения насыпного объема и рассчитанные на его основе показатели представлены в таблице.

Низкая насыпная плотность до и после уплотнения и высокие значение HR и коэффициента

прессуемости подтверждают плохую сыпучесть образцов АФС, обусловленную в том числе высокой пористостью порошка. Полученное значение насыпной плотности АФС необходимо учитывать при подборе вспомогательных веществ, насыпная плотность которых должна быть приближена к таковому для предотвращения расслаивания таблетуемой, инкапсулируемой или порошкообразной массы. Исходя из полученных данных о плохой сыпучести АФС, можно сделать вывод о необходимости использования высокоэффективных вспомогательных веществ для прямого пресования или применения методов грануляции, позволяющих увеличить плотность порошка, тем самым улучшив его реологические свойства.

Биофармацевтические свойства. Калибровочные графики для 3 сред растворения, представленные на рис. 3, подтверждают линейность зависимости оптической плотности от концентрации раствора АФС и следовательно, достоверность результатов количественного определения изучаемой субстанции в отобранных пробах.

Кривые растворения АФС в 3 средах представлены на рис. 4, согласно которому изучаемое вещество проявляет выраженную рН-зависимость

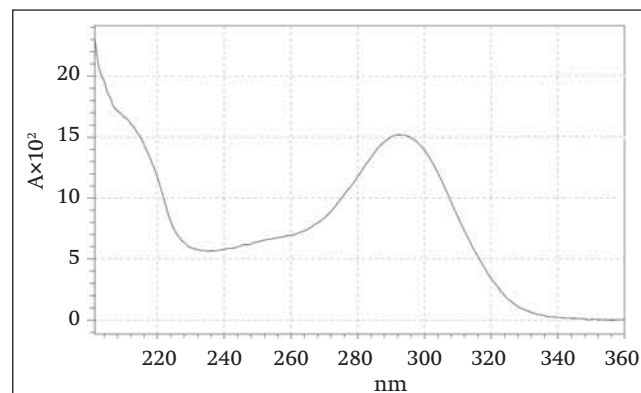


Рис. 2. Типичный УФ-спектр АФС при концентрации 0,004 мг/мл (ось ОХ – длина волны, нм; ось ОУ – оптическая плотность)
Fig. 2. Typical UV spectrum of the API at 0.004 mg/ml concentration (OX – wavelength, nm; OY – absorbance)

Показатели прессуемости АФС

Compressibility indicators of the API

Показатель, ед. измерения	V_0 , мл	V_{1250} , мл	V_{10} , мл	V_{500} , мл	ρ_0 , г/мл	ρ_1 , г/мл
Значение	50	34	47	34,2	0,36	0,53
Показатель, ед. измерения	КП, %		ΔV , мл		HR	
Значение	$31,83 \pm 1,33$		$12,83 \pm 0,46$		$1,47 \pm 0,09$	

растворимости, обусловленную амфотерными свойствами вещества, в структуре которого присутствует основной центр – атом азота пиридинового типа в тиазольном кольце и NH-кислотный центр лактамной группы (рис. 1), за счет чего изучаемая АФС, образуя соли, лучше растворяется в хлористоводородной кислоте и более щелочном буферном растворе с рН 6,8. Минимальная растворимость наблюдается при рН 4,5, что по-видимому, обусловлено приближением данного значения кислотности среды к изоэлектрической точке изучаемого вещества. Также стоит отметить, что насыщение растворов в указанных условиях было достигнуто в течение 2 ч, о чем свидетельствует отсутствие статистически значимых различий в концентрациях растворов через 2 и 4 ч исследования. При этом, за указанное время ни в одной из сред растворения не была достигнута разделяющая концентрация, равная 0,04 мг/мл

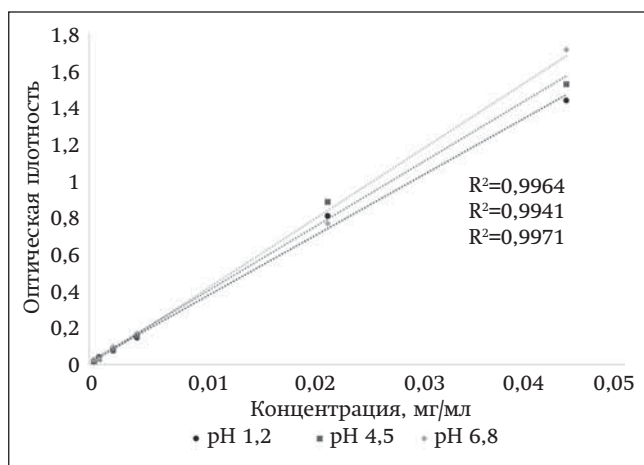


Рис. 3. Калибровочные графики для 3 сред растворения
Fig. 3. Calibration plots for three dissolution media

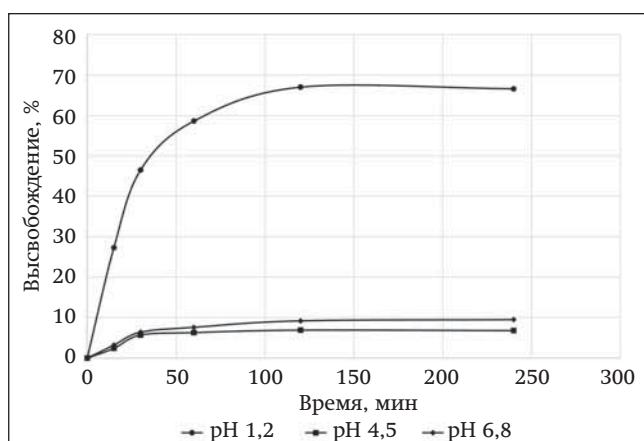


Рис. 4. Кривые растворения АФС в 3 средах
Fig. 4. API dissolution curves in three media

(100% высвобождение), в связи с чем изучаемая АФС не может быть отнесена к высоко растворимым веществам. Равновесная БФР при рН 1,2 составила $26,64 \pm 1,36$ мкг/мл, при рН 4,5 – $2,72 \pm 0,15$ мкг/мл, при рН 6,8 – $3,8 \pm 0,21$ мкг/мл.

Полученные данные позволяют отнести АФС ко II или IV классу БКС, в связи с чем фармацевтическая разработка ЛФ должна быть направлена на увеличение растворимости или растворимости и проницаемости изучаемой АФС, а наиболее подходящими твердыми ЛФ, обеспечивающими наиболее полное высвобождение субстанции в желудке, в кислой среде которого в наибольшей степени растворимо изучаемое вещество, являются твердые желатиновые капсулы, в которых наполнитель находится в неспрессованном виде, а также 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. 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, сольубилизирующая и дезинтегрирующая способности вспомогательных веществ.

Заключение

Таким образом, были изучены основные технологические свойства АФС на основе производного фенилтетрагидрохинолиндиона (сыпучесть и прессуемость), которые накладывают определенные ограничения на разработку твердой ЛФ на основе данного вещества, а именно: необходимость применения грануляции или использования высокоэффективных вспомогательных веществ для прямого прессования. Полученные данные о равновесной БФР говорят о принадлежности изучаемого вещества ко II или IV классу БКС, в связи с чем фармацевтическая разработка ЛФ на его основе должна быть направлена на увеличение растворимости или растворимости и проницаемости АФС.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература/References

1. ICH guideline Q8 (R2) on pharmaceutical development. [Electronic resource]. Access mode: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q8-r2-pharmaceutical-development> [Accessed 07 Feb., 2022].
2. Бесхмельницына Е.А., Покровский М.В., Должиков А.А. и др. Исследование анальгетической и противовоспалительной активности нового неопиоидного анальгетика на основе селективного ингибитора ионных каналов TRPA1. Кубанский научный медицинский вестник. 2019; 26 (1): 77–87. [Beskhmel'nitsyna E.A., Pokrovskii M.V., Dolzhikov A.A. et al. Study of the Analgesic and Anti-Inflammatory Activity of a New Non-Opioid Analgesic Based on a Selective Inhibitor of TRPA1 Ion Channels. Kubanskii nauchnyi meditsinskii vestnik. 2019; 26 (1): 77–87. DOI: 10.25207/1608-6228-2019-26-1-77-87 (in Russian)].
3. Chaurasia G. A review on pharmaceutical preformulation studies in formulation and development of new drug molecules. International J. of Pharmaceutical Science and research. 2016; 7 (6): 2313–20. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.7(6).2313-20
4. Benet L.Z. The Role of BCS (Biopharmaceutics Classification System) and BDDCS (Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System) in Drug Development. J. of Pharmaceutical Sciences. 2013; 102 (1): 34–42. DOI: 10.1002/jps.23359
5. Yasir M., Asif M., Kumar A. et al. Biopharmaceutical classification system. International J. of PharmTech Research. 2010; 2 (3): 1681–90.
6. Chavda H.V., Patel C.N., Anand I.S. Biopharmaceutics classification system. Systematic Reviews in Pharmacy. 2010; 1 (1): 62–9. DOI: 10.4103/0975-8453.59514
7. Шохин И.Е., Раменская Г.В., Кулинич Ю.И. и др. Определение равновесной биофармацевтической растворимости на примере пироксикама. Биофармацевтический журнал. 2011; 3 (3): 39–42. [Shokhin I.E., Ramenskaya G.V., Kulinich Yu.I. et al. Equilibrium biopharmaceutical solubility determination of piroxicam substance. Biofarmatsevticheskii zhurnal. 2011; 3 (3): 39–42 (in Russian)].
8. Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. [Electronic resource]. Available at: <http://resource.nlm.nih.gov/101720038> [accessed 14 March 2022].
9. ICH M9 on biopharmaceutics classification system based biowaivers. [Electronic resource]. Access mode: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers> [accessed 14 March 2022].
10. Кравченко А.Д. Обоснование начальной дозы нового антагониста TRPA1 – производного фенилтетрагидрохинолиндииона для клинических исследований. Инновационные исследования: теоретические основы и практическое применение: сборник статей по итогам Всероссийской научно-практической конференции. Уфа, 2021; 62–5. [Kravchenko A.D. Justification of the initial dose of a new TRPA1 antagonist, a phenyltetrahydroquinolinedione derivative, for clinical trials. Innovatsionnye issledovaniya: teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primenenie: sbornik statei po itogam Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii. Ufa, 2021; 62–5 (in Russian)].
11. Kravchenko A.D., Pyatigorskaya N.V., Brkich G.E. et al. 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. Research Results in Pharmacology. 2021; 8 (1): 1–11. DOI: 10.3897/rrpharmacology.8.8050

Поступила 29 марта 2022 г.

Received 29 March 2022

Принята к публикации 14 апреля 2022 г.

Accepted 14 April 2022