

УДК 615.074: 615.011: 615.453.6

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2024.50.21.007>

ЛАБОРАТОРНЫЙ ЭТАП ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКИ ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА РОКСАДУСТАТ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

М.В. Карлина, канд. биол. наук, руководитель отдела технологии, кинетики и анализа лекарственных средств АО «НПО «Дом фармации», Ленинградская область;

karlina.mv@doclinika.ru

В.М. Косман, канд. фарм. наук, руководитель химико-аналитической лаборатории АО «НПО «Дом фармации», Ленинградская область;

kosman.vm@doclinika.ru

А.И. Кузнецова, младший научный сотрудник лаборатории фармацевтической разработки АО «НПО «Дом фармации», Ленинградская область;

kuznetsova.ai@doclinika.ru

В.Ю. Балабаньян, доктор фарм. наук, доцент, генеральный директор ООО «Гелеспон», г. Москва;

bal.pharm@mail.ru

М.Ф. Фазылов, директор по развитию ООО «Гелеспон», г. Москва;

maratfazylov@gmail.com

М.Н. Макарова, доктор мед. наук, директор АО «НПО «Дом фармации», Ленинградская область;

makarova.mn@doclinika.ru

В.Г. Макаров, доктор мед. наук, научный руководитель АО «НПО «Дом фармации», Ленинградская область;

makarov.vg@doclinika.ru

В основе создания качественного лекарственного препарата лежат адекватно спланированные исследования на лабораторном этапе фармацевтической разработки. Целью исследования являлось проведение лабораторного этапа фармацевтической разработки воспроизведенного препарата Роксадустат (ингибитор пролилгидроксилазы, предназначен для лечения анемии у пациентов с хроническим заболеванием почек) в условиях минимальной исходной информации. Для субстанции проведены преформуляционные исследования, изучены биофармацевтические свойства, апробирована возможность получения таблеток методом прямого прессования; для опытно-промышленной серии

таблеток проведен тест сравнительной кинетики растворения (ТСКР). Установлена неудовлетворительная сыпучесть и низкая растворимость субстанции; определен класс по биофармацевтической классификационной системе (класс II), показано, что роксадустат умеренно абсорбирует влагу и склонен разложению на свету и в присутствии кислорода. Обосновано введение в состав препарата наполнителей, разрыхлителей, глидантов и солибулизаторов, выбрана технология получения таблеток методом прямого прессования. Для теста «Растворение» подобрана оптимальная среда, в которой кинетика высвобождения роксадустата из опытно-промышленной серии разрабатываемого препарата

и препарата сравнения (Эвренцо) признана эквивалентной. Лабораторный этап фармацевтической разработки характеризуется вариабельностью в зависимости от полноты исходных данных о свойствах субстанции и разрабатываемой лекарственной формы и составляет основу дальнейшего масштабирования технологии создаваемого препарата.

Ключевые слова: роксадустат, фармацевтическая разработка, активная фармацевтическая субстанция, преформуляционные исследования, таблетки, технология

Создание качественного воспроизведенного ЛП – сложный, многостадийный и достаточно длительный процесс, сопряженный с многочисленными рисками [1]. В соответствии с документами ICH Q8 «Фармацевтическая разработка», Q9 «Управление рисками по качеству», Q10 «Фармацевтическая система качества», фармацевтическая разработка должна включать изучение исходной субстанции, научное обоснование состава и технологии разрабатываемого ЛП, должен быть проведен выбор параметров технологического процесса, а также осуществлен анализ рисков на всех стадиях разработки. На лабораторном этапе фармацевтической разработки важно правильно спланировать преформуляционные исследования, включающие изучение физико-химических свойств действующего вещества, изучение технологических свойств активной субстанции и изучение совместимости с потенциальными вспомогательными веществами. Необходимым элементом является разработка и валидация (хотя бы предварительная) аналитических методик, необходимых для контроля действующего вещества и примесей в различных образцах, получаемых в ходе данного этапа (при выполнении стресс-тестов, оценке совместимости и др.). Адекватно спланированные преформуляционные исследования закладывают основу

для рационального выбора состава и технологии получения препарата, которые также должны быть предложены по итогам лабораторного этапа фармацевтической разработки. Несмотря на кажущуюся относительную простоту создания воспроизведенного препарата (по сравнению с оригинальным ЛП), такого рода работы зачастую осложнены недостатком исходной информации о прототипе, отсутствием единой стратегии и алгоритма экспериментальной работы и существенной ее вариабельностью в зависимости от свойств изучаемой субстанции, разрабатываемой лекарственной формы и т. п. Кроме того, поскольку процесс фармацевтической разработки растянут во времени, дополнительным источником сложностей может являться изменение регуляторной базы, требований нормативных документов, сопровождающий процесс создания и регистрации ЛП (например, выход нового издания Государственной фармакопеи и др.).

Препарат Эвренцо (Evrenzo, международное непатентованное название (МНН) Роксадустат, Roxadustat) предназначен для лечения анемии у пациентов с хроническим заболеванием почек, находящихся на гемодиализе. В настоящее время он одобрен для применения в Японии, Китае, Европе, Чили, Корее и зарегистрирован на фармацевтическом рынке РФ. Роксадустат является первым в своем классе ингибитором пролилгидроксилазы для перорального применения, он активирует естественную реакцию организма на снижение уровня кислорода в крови, что приводит к усилению эритропоэза и увеличению способности крови переносить кислород. Использование роксадустата способствует повышению уровня гемоглобина, препарат характеризуется хорошей переносимостью и нашел свое применение в клинической практике [2–4].

Учитывая, что на отечественном фармацевтическом рынке зарегистрирован только один препарат роксадустата, а также то,

что требуется снижение зависимости от зарубежных поставок из-за возможных перебоев и исчезновения лекарств из аптек, разработка воспроизведенных препаратов на основе данного действующего вещества является актуальной задачей.

Цель данной работы – проведение лабораторного этапа фармацевтической разработки препарата роксадустат в условиях минимальной исходной информации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила субстанция роксадустата (Roxadustat, N- [(4-гидрокси-1-метил-7-фенокси-3-изохинолилнил) карбонил] глицин) (рис. 1), ООО В-МИН, Россия), представлявшая собой порошок от светло-желтого до зелено-желтого цвета [5].

Изучение основных технологических свойств субстанции роксадустата

Оценку размера и формы частиц исходной субстанции роксадустата проводили с использованием микроскопа Axio Scope A1, Carl Zeiss (Германия). Образец исследовали без использования иммерсионной жидкости.

Уголестественного откоса и насыпную плотность определяли согласно рекомендациям Государственной фармакопеи (ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков», ОФС.1.4.2.0024 «Насыпная плотность и плотность после уплотнения», ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести

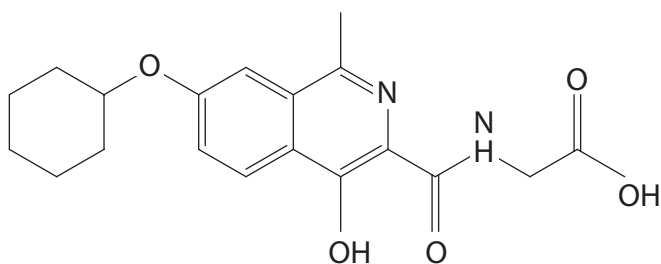


РИСУНОК 1. Структурная формула роксадустата ($C_{19}H_{16}N_2O_5$, М.м. 352,34)

порошков). По результатам рассчитывали индекс Хауснера (Н) как отношение насыпной плотности после и до уплотнения и индекс Карра (J) как отношение разности насыпной плотности после и до уплотнения к насыпной плотности после уплотнения, выраженный в процентах.

Для определения прессуемости субстанции получали модельные таблетки массой 0,15 г и диаметром 8 мм при давлении прессования 10–50 кгс/см² с помощью ручного гидравлического пресса ПГПр (Россия).

Коэффициент липофильности (логарифм коэффициента распределения вещества в двухфазной системе «н-октанол – вода», logP) исследуемой субстанции роксадустата был определен на основе структурной формулы с помощью программного обеспечения ACD/LogP, а также найден в базе данных коммерчески доступных соединений ZINC [6–7].

Изучение растворимости и проницаемости роксадустата через монослой Caco-2 клеток, подбор условий для теста «Растворение»

В соответствии с ОФС.1.2.1.0005.15 «Растворимость», проведена оценка растворимости субстанции роксадустата в различных растворителях при комнатной температуре и при нагревании на водяной бане до 30°C (условия проведения эксперимента для медленно растворимых субстанций).

Тест по изучению проницаемости и транспорта роксадустата через монослой Caco-2 клеток выполняли согласно методикам, изложенным в работе [8]. Для оценки проницаемости и транспорта использован монослой клеток линии Caco-2, моделирующий эпителий стенки тонкого кишечника и взаимодействие ЛП с транспортерами. Тест основан на внесении тестируемого объекта в донорный компартмент специального планшета (24-луночные планшеты Nunclon® Delta Surface, Thermo Scientific, Германия), содержащего монослой

клеток в качестве «живой мембраны», с последующей хроматографической оценкой содержания внесенного соединения в акцепторном компартменте. Были выполнены эксперименты для концентраций действующего вещества – 2 и 20 мкм, параллельно выполнен тест с контрольными веществами (пропранолола гидрохлорид и варфарин натрия) как коммерчески доступными соединениями, подтверждающими адекватность постановки теста [8,9].

Тест «Растворение» проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.4.2.0014.15, используя прибор типа «Лопастная мешалка» (тестер для проверки растворения Erweka серии DT 600, Германия), объем среды высвобождения – 500 мл, температура среды растворения 37°C, скорость вращения лопасти 50 об/мин, навески АФС около 20 мг (эквивалентно минимальной дозировке разрабатываемой ГЛФ), в качестве потенциальных сред высвобождения использовали воду очищенную, 0,1 М раствор соляной кислоты, фосфатный буферный раствор с pH 6,8. Отбор проб проводили через 15, 30, 45, 60, 120, 180 и 240 минут от начала теста с последующим определением содержания роксадустата методом ВЭЖХ-УФ.

Для определения роксадустата в буферных средах, использованных при проведении тестов по изучению свойств субстанции *in vitro* (буферные растворы с pH 6,5 и 7,4), а также в образцах, получаемых в процессе выполнения стресс-тестов, оценки совместимости субстанции со вспомогательными веществами, при разработке лекарственной формы (ЛФ) и в тесте «Растворение» выбран метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым (УФ) детектированием.

Подготовка проб, получаемых в процессе выполнения стресс-тестов, оценки совместимости субстанций со вспомогательными веществами, включала получение метанольных растворов с концентрацией роксадустата около

50 мг/мл (для проб, получаемых в тесте «Растворение» для разведения растворов стандартного образца (СО) роксадустата использована среда растворения); при необходимости образцы фильтровали через фильтр-насадки с диаметром пор 0,45 мкм и дозировали в ВЭЖХ-систему. Содержание роксадустата рассчитывали с применением уравнений регрессии, полученных при валидации методик, или методом внешнего стандарта (по результатам анализа раствора СО роксадустата с концентрацией около 50 мкг/мл, приготовленного непосредственно в день анализа).

Анализ выполнен на хроматографе высокого давления фирмы Shimadzu (Япония) с диодно-матричным детектором и колонкой Luna C₁₈ (2) 4,6×150 мм (размер частиц сорбента 5 мкм) и предколонкой (3 мм), заполненной тем же сорбентом (Phenomenex, США), в изократическом режиме элюирования смесью раствора, содержащего 0,03% раствор трифторуксусной кислоты и ацетонитрил в соотношении 35:65, скорость подачи элюента 1 мл/мин, дозируемый объем проб 20 мкл, длина волны детектирования 225 нм. Регистрация и обработка хроматограмм выполнена с помощью программного обеспечения LabSolutions LCSolution Version 1.25 (Shimadzu, Япония).

Методика анализа роксадустата в буферных средах (использованных при выполнении теста оценки проницаемости и теста «Растворение»), а также методика его количественного определения для стандартизации ЛФ валидированы по параметрам «специфичность» (specificity), «аналитическая область» и «линейность» (range, linearity), «правильность» (trueness), «прецизионность» (precision) на уровне повторяемости (сходимости) и промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности в соответствии с рекомендациями [10–15]. Удовлетворительные результаты по всем требуемым валидационным параметрам позволили использовать методику в дальнейшей экспериментальной работе.

Изучение стабильности субстанции роксадустата в условиях стресс-тестов

Исследование стабильности субстанции, выполненное в соответствии с регуляторными документами [16–18], включало стрессовые испытания – окислительный тест, оценку гигроскопичности и свето (фото) стабильности.

Для проведения окислительного теста субстанцию роксадустата (около 10 мг, точная навеска) взвешивали, помещали в 2 пенициллиновых флакона, закрывали резиновыми пробками и закатывали алюминиевым колпачком (флаконы с кислородом воздуха). В другие 2 пенициллиновых флакона помещали навески субстанции роксадустата, заполняли флаконы азотом и укупоривали аналогично (флаконы с инертной средой). Выдерживали в сушильной камере при температуре $40\pm 2^\circ\text{C}$, время воздействия – 2 недели.

Для проведения оценки гигроскопичности субстанцию роксадустата (около 10 мг, точная навеска) предварительно взвешивали, помещали в 4 пенициллиновых флакона, закрывали герметизирующей пленкой Parafilm и делали в пленке отверстия. Два испытуемых образца помещали в эксикатор с повышенной влажностью (75–100%). Другие два образца помещали в эксикатор с пониженной влажностью с осушителем (ниже 25%). Температура хранения $25\pm 2^\circ\text{C}$, время воздействия – 2 недели. На 1-й, 7-й и 14-й день теста измеряли массу образца во флаконе.

Для проведения испытания на свето (фото) стабильность предварительно взвешивали субстанцию роксадустата (около 10 мг, точная навеска), помещали в 6 пенициллиновых прозрачных флаконов, заполняли флаконы азотом, закрывали резиновой пробкой и закатывали алюминиевыми колпачками. 4 флакона помещали под источник света. Для исключения влияния других факторов два флакона оборачивали фольгой для предотвращения попадания света и помещали рядом с остальными

флаконами. Температура хранения $25\pm 2^\circ\text{C}$, время воздействия – 2 недели.

Изучение совместимости субстанции роксадустата со вспомогательными веществами

Исследовали совместимость со следующими вспомогательными веществами: микрокристаллическая целлюлоза (Comprecel тип M102D+, Mingtai Chemical Co., Ltd., Тайвань), лактозы моногидрат (Tabletose 100, Meggle, Германия), кроскармеллоза натрия (Primellose, DFE pharma, Германия), повидон (коллидон 25, БАСФ, Германия), стеарат магния (NutriMag ST-v, magnesium stearate, vegetable, Calmags, Германия), карбоксиметилкрахмал (натрия крахмал гликолят, Primojel, DFE pharma, Германия) и аэросил (aerosil 200 pharma, Evonik, Германия). Для оценки совместимости субстанцию роксадустата смешивали с каждым вспомогательным веществом, потенциально входящим в состав ЛФ, в соотношении 1:1, помещали в пенициллиновые флаконы, закрывали резиновой пробкой и закатывали алюминиевым колпачком. Образцы анализировали через 2 недели хранения при температуре $60\pm 2^\circ\text{C}$.

В процессе стресс-тестов и оценки совместимости оценивали внешний вид образцов и количественное содержание действующего вещества методом ВЭЖХ-УФ.

Апробация возможности применения метода прямого прессования для получения ядра таблеток с исследуемой субстанцией

Модельные таблетки диаметром 8 мм с дозировкой АФС 20 мг с разным соотношением наполнителей (лактоза:МКЦ 2:1, 1:1, 1:0, соответственно составы 1–3) и использованием в качестве связывающего вещества повидона, в качестве дезинтегранта кроскармеллозы, в качестве смазывающего компонента (лубриканта) стеарата магния получали при давлении прессования $30\text{--}70\text{ кгс/см}^2$ с помощью ручного гидравлического пресса ПГПр (Россия).

Тест сравнительной кинетики растворения (ТСКР)

Исследование ТСКР проводили в соответствии требованиями [19–22] и с проектом НД на исследуемый препарат на аппарате «Лопастная мешалка» (Erweka DT 827/1000) при скорости вращения 50 об/мин при температуре $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в трех средах растворения: фосфатный буферный раствор pH 6,8 (среда контроля качества), ацетатный буферный раствор pH 4,5 и буферный раствор хлористоводородной кислоты pH 1,2. Объем сред растворения составил 900 мл. Временные точки отбора проб: 10 мин., 15 мин., 20 мин., 30 мин., 45 мин. и 60 мин. Спустя указанные промежутки времени проводили отбор 10 мл, пробы фильтровали через мембранный фильтр из гидрофильного политетрафторэтилена (PTFE HP, GVS ABLUO, ООО «Джи Ви Эс Рус», Россия) с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 2–3 мл фильтрата. Полученный фильтрат смешивали со средой растворения в соотношении 1:10. Количественное определение высвободившегося роксадустата проводили методом УФ-спектрофотометрии, измеряя оптическую плотность на спектрофотометре (Shimadzu UV 1800, Shimadzu, Япония) при длине волны 378 нм в кварцевой кювете с толщиной слоя 10 мм. Для количественного определения использовали стандартный образец (СО) роксадустата (НИЛ ПАО «Фармсинтез»). Испытание проводили на 12 единицах каждого лекарственного средства отдельно для каждой из трех сред растворения. В испытаниях участвовали тестируемый препарат роксадустат, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 100 мг (опытно-промышленная серия 050 522, ООО «В-МИН», Россия, состав: активное вещество – роксадустат, 100 мг, вспомогательные вещества лактозы моногидрат (115D) – 408,0 мг, целлюлоза микрокристаллическая (200) – 240,0 мг, кроскармеллоза натрия – 40,0 мг, аэросил 4,0 мг, магния стеарат 8,0 мг, Opadry II (85F220 031) – 40,0 мг)

и референсный препарат (препарат сравнения) Эврензо (Evrenzo), таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 100 мг (серия 20HO347, Astellas Pharma Europe, Нидерланды), активное вещество роксадустат, 100 мг, вспомогательные вещества: лактозы моногидрат, целлюлоза микрокристаллическая (E460), кроскармеллоза натрия (E468), повидон К 29–32 (E1201), магния стеарат (E470b), состав оболочки: поливиниловый спирт (E1203), тальк (E553b), макрагол 3350 (E1521), красный очаровательный АС (Allurarot Aluminium Complex) (E129), диоксид титана (E171), лецитин (E322).

Статистическая обработка результатов включала расчет средних арифметических значений, соответствующих им стандартных отклонений (SD), сравнение результатов измерений для выявления статистически значимых различий (сравнение проводили при 95% доверительном интервале параметрическими или непараметрическими методами в зависимости от нормальности распределения данных) и выполнена с помощью лицензированного программного обеспечения Prism 9 (GraphPad Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данная работа была направлена на проведение лабораторного этапа фармацевтической разработки воспроизведенного препарата с МНН Роксадустат в форме таблеток.

Сложности создания любого воспроизведенного ЛП связаны с тем, что разработчик, как правило, имеет дело не с идентичной субстанцией действующего вещества оригинального препарата. Субстанция может быть иного производителя, полученная по иной технологии, что может вести к иному набору примесей, она может отличаться по технологическим характеристикам, иначе вести себя в стресс-тестах, нежели субстанция оригинального препарата, что может влиять на состав

и количество вспомогательных веществ, которые будут введены в лекарственную форму, и на технологию получения препарата. Кроме того, как правило, разработчику неизвестны конкретные марки вспомогательных веществ, используемых в оригинальном препарате, а также часто неизвестны их количества и технология получения оригинального лекарственного препарата. Для разрабатываемого воспроизведенного препарата роксадустата на момент проведения лабораторного этапа фармацевтической разработки также не был известен качественный и количественный состав вспомогательных веществ, кроме того, в доступной литературе не было информации о том, к какому классу биофармацевтической классификации (БСК) он относится.

Изучение технологических свойств субстанции

Поскольку на основе субстанции роксадустата планировали разработку препарата в виде твердой лекарственной формы (таблетки), важно было изучить форму и размер ее кристаллов, т. к. эти характеристики являются значимыми с точки зрения сыпучести порошков, их прессуемости и могут оказывать влияние на параметры технологического процесса получения масс для таблетирования и режимы их прессования [23].

При изучении размера и формы частиц субстанции роксадустата было установлено,

что они представляют собой мелкие анизодиметрические частицы призматической формы с присутствием пластинчатых частиц. Размеры частиц варьируются в диапазоне от 0,5 до 20 мкм, основная масса частиц субстанции имеет размер от 5 до 20 мкм, что обуславливает значительную поверхность соприкосновения частиц между собой.

Полученные данные позволили предположить, что субстанция роксадустата будет обладать низкой сыпучестью, т. к. порошки, содержащие частицы призматической формы с размером частиц менее 100 мкм, характеризуются низкой сыпучестью. Однозначного вывода о прессуемости субстанции по результатам микроскопического анализа сделать не представлялось возможным, т. к. призматические частицы с подобным размером, как правило, обладают хорошей прессуемостью, однако наличие в субстанции фракции частиц пластинчатой формы может привести к ее отсутствию.

Для исследуемой субстанции также были изучены угол естественного откоса, насыпная плотность и прессуемость (табл. 1).

Полученные данные свидетельствовали о том, что субстанция роксадустата обладает неудовлетворительными технологическими свойствами:

- плохой прессуемостью – прилипает к матрице и пуансону таблетпресса, плохо выталкивается даже при небольшом давлении

Таблица 1

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУБСТАНЦИИ РОКСАДУСТАТА

Угол естественного откоса, °	Значение индекса Хауснера (H) ¹	Значение индекса Карра (J) ²	Прессуемость
65,0	1,47±0,01	31,97±0,15	Не обладает прессуемостью, таблетка после снятия давления разрушается

Примечания: 1 – индекс Хауснера (H) рассчитывают как отношение насыпной плотности после и до уплотнения; 2 – индекс Карра (J) рассчитывали как отношение разности насыпной плотности после и до уплотнения к насыпной плотности после уплотнения, выраженный в процентах

- прессования 10 кгс/см², перепрессовывается и разрушается после снятия давления;
- очень плохой сжимаемостью (значения индекса Карра лежат в интервале от 32 до 37, значения индекса Хауснера – в интервале от 1,46 до 1,59);
 - угол естественного откоса составляет 65°, что позволяет отнести субстанцию к плохо сыпучим материалам [23–26].

В связи с отсутствием необходимых технологических свойств у субстанции роксадустата для получения таблеток удовлетворительного качества в состав таблетмассы необходимо введение вспомогательных веществ: наполнителей, разрыхлителей, глидантов, лубрикантов.

Изучение растворимости и проницаемости субстанции роксадустата

В доступной литературе на момент начала выполнения работ не было информации о том, к какому классу биофармацевтической классификации (БКС) относится роксадустат. Однако параметры, лежащие в основе БКС (растворимость и проницаемость), необходимо учитывать при разработке составов и технологий лекарственных препаратов [27]. Поэтому следующим этапом работы стало изучение

растворимости субстанции роксадустата и ее проницаемости.

Установлено, что изучаемая субстанция роксадустата практически нерастворима в таких растворителях, как вода, этиловый спирт, метанол, гексан, очень малорастворима в хлороформе, малорастворима в метаноле и хлороформе при нагревании до 30°C (табл. 2). Отметим, что при изучении растворимости использовали условия для оценки медленно растворимых субстанций, предполагающие нагревание, согласно рекомендациям ОФС.1.2.1.0005.15 «Растворимость» (ГФ XIV), отсутствующим в более новой редакции ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость» (ГФ XV). Изучаемая субстанция явилась примером, когда эти условия могут быть значимы.

Учитывая низкую растворимость субстанции в воде, а также литературные данные об увеличении растворимости роксадустата в диапазоне pH 1,2–7,5 от 0,001 до 3,7 мг/мл [28], что, по-видимому, связано с его двойственной кислотно-основной природой [29], а также то, что максимальная дозировка препарата, зарегистрированная в РФ к медицинскому применению, составляет 150 мг, можно предположить, что субстанция обладает низкой биофармацевтической растворимостью.

Таблица 2

РАСТВОРИМОСТЬ СУБСТАНЦИИ РОКСАДУСТАТА В РАЗЛИЧНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ

Растворитель	Растворимость в соответствии с ГФ XIV	Количество растворителя, необходимое для растворения 1 г вещества, мл
Вода	Практически нерастворим	10 000 и выше
Этанол	Практически нерастворим	10 000 и выше
Метанол	Практически нерастворим / малорастворим ¹	10 000 и выше / от 100 до 1000
Хлороформ	Очень малорастворим / малорастворим ¹	от 1000 до 10 000 / 10 000 и выше
Гексан	Практически нерастворим	10 000 и выше

Примечание: 1 – через слеш приведена информация для условий проведения эксперимента для медленно растворимых субстанций (если она отличалась от результатов, полученных при проведении эксперимента при комнатной температуре)

Таблица 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ КЛЕТОЧНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ РОКСАДУСТАТА В CASO-2 МОДЕЛИ, $P_{app} \cdot 10^{-6}$, CM/CEK (СРЕДНЕЕ \pm SD)

Концентрация, мкм	Апикально-базолатеральное направление	Базолатерально-апикальное направление
2	9,07 \pm 0,38	3,55 \pm 0,33
20	12,32 \pm 1,20	3,80 \pm 0,98

Основными свойствами лекарственных веществ, обуславливающими их кишечную проницаемость, являются растворимость в водных средах и липофильность. Коэффициент $\log P$ роксадустата, полученный расчетным путем (с помощью программного обеспечения ACD/LogP), составил 3,22 \pm 1,33. И 2,86 – согласно данным базы ZINC, что свидетельствовало о липофильности субстанции и позволило предположить ее хорошую проницаемость. Однако необходимо отметить, что данный метод оценки проницаемости подходит для субстанций, абсорбция которых проходит путем простой диффузии и не учитывает иные механизмы всасывания лекарственных веществ, например, активный транспорт с участием переносчиков [30]. В связи с вышесказанным далее была изучена проницаемость роксадустата через монослой клеток линии Caco-2, моделирующий эпителий стенки тонкого кишечника [31]. Результаты, полученные при выполнении эксперимента, приведены в табл. 3.

Установлено, что роксадустат хорошо проникает в направлении от апикальной к базолатеральной мембране и, учитывая связь между проницаемостью через монослой клеток Caco-2 и кишечной абсорбцией у человека, вероятно, обладает хорошей абсорбцией. По мнению авторов [32], для соединений с высокой проницаемостью характерны значения P_{app} (в апикально-базолатеральном направлении) выше $1 \cdot 10^{-5}$ см/сек, а для соединений с низкой проницаемостью – менее $1 \cdot 10^{-6}$ см/сек. Полученные данные совпадают

с литературными: о хорошей проницаемости субстанции роксадустата есть упоминание в обзорной статье 2023 года [33]. На основании полученных результатов субстанцию роксадустата можно отнести к II классу субстанций по БКС (низкая растворимость, высокая проницаемость). Для таких субстанций лимитирующим фактором при разработке пероральных ЛП является растворимость, что может потребовать введения в состав пероральных лекарственных форм разрыхлителей и солюбилизаторов.

Изучение стабильности роксадустата в условиях стресс-тестов

Проведение экспериментальных исследований стабильности субстанций действующих веществ является необходимым этапом разработки лекарственных препаратов, позволяющим обосновать состав и технологию лекарственного средства, выбор первичной упаковки, срок годности и условия хранения. Для субстанции роксадустата выполнены стрессовые испытания, включающие окислительный тест, оценку гигроскопичности и свето (фото) стабильности (табл. 4).

Полученные результаты свидетельствуют о тенденции к снижению содержания АФС, более выраженной в присутствии кислорода, об умеренном наборе влаги, изменении внешнего вида и снижении основного вещества в условиях повышенной влажности. При оценке фотостабильности было отмечено изменение внешнего вида субстанции

**УСЛОВИЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ СТРЕСС-ТЕСТОВ
ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ РОКСАДУСТАТА**

Условия	Внешний вид (порошок от светло-желтого до зелено-желтого цвета)	Содержание основного компо- нента (ВЭЖХ), %
Окислительный тест		
Флаконы с инертной средой (N ₂), температура 40±2°C, 2 недели хранения	Порошок зелено-желтого цвета	97,37±1,20
Флаконы с кислородом воздуха, температура 40±2°C, 2 недели хранения	Порошок зелено-желтого цвета	95,16±0,20
Оценка гигроскопичности		
Пониженная влажность (RH≤25%); температура 25±2°C, 14 дней хранения	Порошок зелено-желтого цвета	100,48±1,18
Повышенная влажность (RH=100%); температура 25±2°C; 14 дней хранения	Масса светло-кремового цвета	93,25±4,38
Оценка свето (фото) стабильности		
Флаконы с инертной средой (N ₂); температура 25±2°C; без источника света; 2 недели хранения	Порошок зелено-желтого цвета	101,29±0,83
Флаконы с инертной средой (N ₂); температура 25±2°C; источник света; 1 неделя хранения	Порошок светло-кремового цвета	100,49±2,36
Флаконы с инертной средой (N ₂); температура 25±2°C; источник света; 2 недели хранения	Порошок светло-кремового цвета	99,74±0,31

и незначительное снижение содержания АФС, однако в соответствии с литературными данными [34] даже такое изменение содержания действующего вещества после хранения АФС под источником света может указывать на его светонестабильность. Таким образом, по результатам стресс-тестов было установлено, что изученную субстанцию роксадустата и, следовательно, лекарственные препараты, получаемые на ее основе, необходимо защищать от воздействия света, влаги и повышенной температуры. В частности, можно рекомендовать покрытие таблеток оболочкой либо

использование упаковки, обеспечивающей 100%-ную защиту от вышеуказанных факторов, например, двусторонней блистерной упаковки из алюминиевой фольги.

Изучение совместимости роксадустата со вспомогательными веществами

На момент начала этапа фармацевтической разработки оригинальный препарат Эврензо еще не был зарегистрирован на территории РФ, в связи с чем состав вспомогательных веществ и их соотношение не были известны. Однако данные, приведенные в патенте РФ

2681304 «Фармацевтические составы ингибиторов hif-гидроксилазы» [34], позволили предположить, что в состав препарата с большой долей вероятности могут входить следующие вспомогательные вещества: лактозы моногидрат; целлюлоза микрокристаллическая; повидон; кроскармеллоза натрия; магния стеарат; в качестве оболочки может быть использована пленочная оболочка, содержащая фотостабилизирующий агент (диоксид титана и по меньшей мере один дополнительный краситель, выбранный из группы, состоящей из красителя красного очаровательного АС, алюминиевого лака красителя красного очаровательного АС, оксида железа красного, оксида железа желтого, красителя желтого «солнечный закат» FCF, алюминиевого лака красителя желтого «солнечный закат» FCF, индиготина, алюминиевого лака индиготина и их комбинаций).

Для субстанции роксадустата исследовали совместимость с основными вспомогательными веществами, предположительно,

входящими в состав оригинального препарата: в качестве наполнителей были исследованы микрокристаллическая целлюлоза и лактозы моногидрат, в качестве дезинтегранта – кроскармеллоза натрия, в качестве связывающего вещества и вещества, улучшающего растворимость фармацевтической субстанции, – повидон, в качестве лубриканта – стеарат магния. Для оценки совместимости нами была выбрана пленочная оболочка Opadry II для таблеток с немедленным высвобождением. Дополнительно была изучена совместимость с разрыхлителем – карбоксиметилкрахмалом и глидантом – аэросилом, широко применяемыми в технологии твердых готовых лекарственных средств и также перечисленными в патенте среди возможных вспомогательных веществ.

Проводили перспективное исследование совместимости, т. к. на данном этапе работ состав лекарственного препарата не был определен и в такой ситуации требуется установить наиболее инертные вспомогательные

Таблица 5

РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ СОВМЕСТИМОСТИ СУБСТАНЦИИ РОКСАДУСТАТА СО ВСПОМОГАТЕЛЬНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Вспомогательные вещества в смеси с субстанцией роксадустата	Содержание основного компонента (ВЭЖХ), %	Внешний вид
–	95,04±0,17	Порошок светло-кремового цвета
Лактозы моногидрат	94,79±0,37 ²	Визуально цвет смеси не изменился
Натрия крахмал гликолят	98,10±3,80 ²	
Целлюлоза микрокристаллическая	95,73±0,90 ²	
Повидон (Kollidon 25)	96,65±2,66 ²	
Кроскармеллоза натрия	95,40±0,19 ²	
Кремния диоксид коллоидный безводный	95,02±0,43 ²	
Магния стеарат ¹	96,46±2,08 ²	
Покрытие (Opadry II)	95,98±2,70 ²	

Примечания: 1 – физическую смесь субстанции роксадустата с магния стеаратом хранили при температуре 40±2°C; 2 – значения не имели статистически значимых различий по сравнению со значениями для субстанции роксадустата после хранения (p>0,05)

вещества по отношению к ФС. Результаты оценки совместимости представлены в табл. 5.

Полученные данные позволили сделать вывод о том, что субстанция роксадустата стабильна при смешивании со всеми исследованными вспомогательными веществами (табл. 5), что позволяет использовать их комбинации в составе разрабатываемой лекарственной формы.

Выбор условий для проведения теста «Растворение»

Тест «Растворение» является краеугольным для твердых дозированных лекарственных форм, т. к. данное испытание используется на протяжении всего жизненного цикла лекарственного препарата: на этапе выбора состава лекарственной формы, при оценке качества препарата при производстве и его стабильности. Тест «Растворение» является гарантом постоянства качества и занимает особое место в оценке биодоступности воспроизведенных препаратов при подтверждении биоэквивалентности [35–36].

При проведении лабораторного этапа разработки воспроизведенного препарата роксадустата в нашем распоряжении не было нормативной документации на оригинальный препарат. Учитывая вспомогательные вещества, перечисленные в патенте, мы предположили, что разрабатываемый состав таблеток будет обеспечивать немедленное высвобождение, в связи с чем выбор условий проведения теста «Растворение» был основан на общих требованиях Фармакопеи, предъявляемых к таблеткам препаратов первой группы с немедленным высвобождением (ОФС.1.4.2.0014): прибор типа «Лопастная мешалка» (как правило, предпочтительнее для таблеток, чем «Вращающаяся корзинка»). В качестве возможных сред растворения использовали среды, рекомендованные ГФ XIV. Отметим, что в регуляторных документах и литературе существует расхождение относительно кислой среды растворения – в ряде источников 0,1М раствор хлористоводородной кислоты и среду растворения с рН 1,2 отождествляют [37]. Вместе с тем авторы [38],

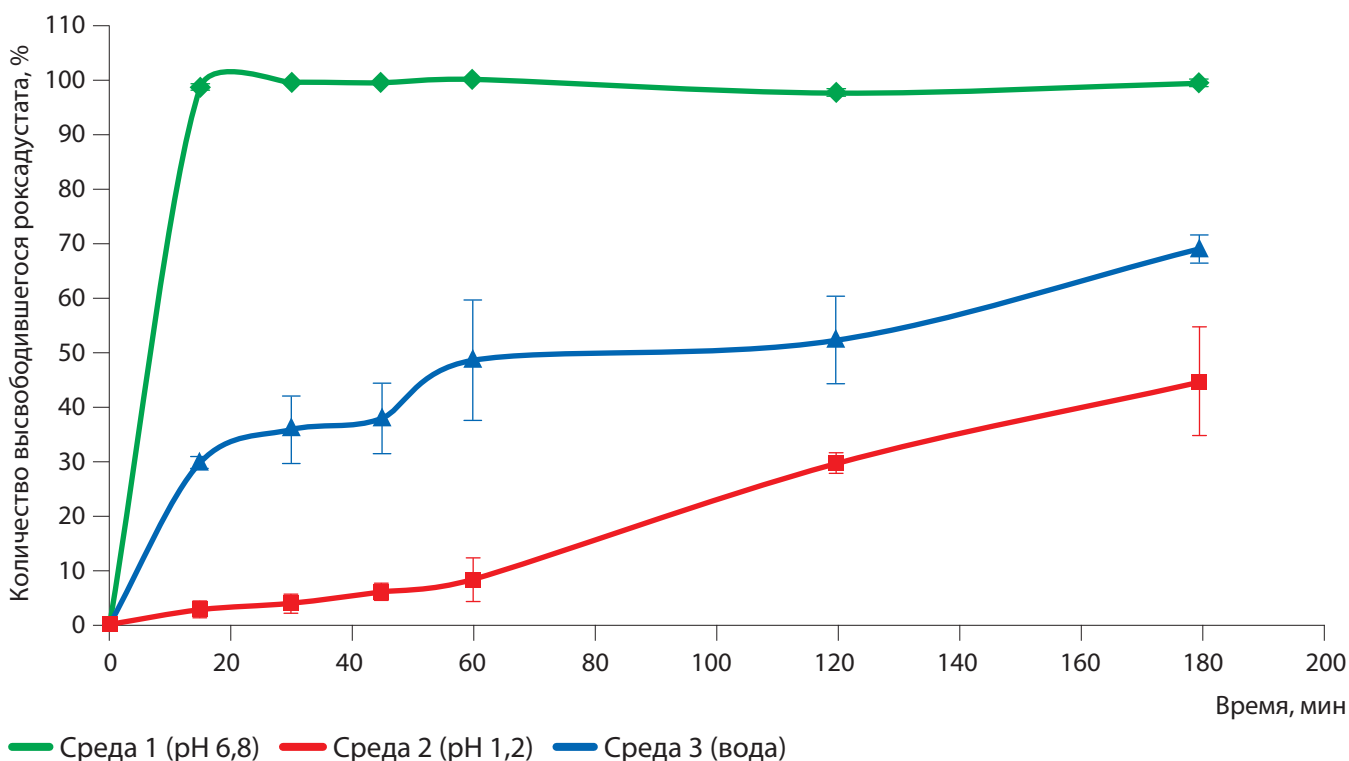


РИС. 2. Высвобождение роксадустата в различные среды растворения (n=4, среднее±SD)

подчеркивают, что среда растворения с рН 1,2 представляет собой буферный раствор на основе хлористоводородной кислоты и хлорида натрия. ОФС.1.4.2.0014, включенная в ГФ XV, содержит однозначные рекомендации по составу и приготовлению основных сред, используемых для проведения теста, отсутствовавшие в более ранних версиях документа. На рис. 2 приведены результаты по изучению высвобождения субстанции роксадустата в различных средах высвобождения.

Полученные данные показали, что субстанция роксадустата незначительно переходит в воду и 0,1М раствор хлористоводородной кислоты: к 45 минутам эксперимента в воду высвободилось порядка 37% роксадустата, в 0,1М раствор хлористоводородной кислоты – 6%, а в среду растворения – фосфатный буферный раствор с рН 6,8 – уже к 5-й минуте тестирования переходило около 98% роксадустата. Полученные результаты позволили предположить, что применение этой среды позволит оценить качество лекарственного препарата на основе субстанции роксадустата в тесте «Растворение», согласно требованиям ГФ для таблеток с обычным высвобождением, перейти в среду должно не менее 75%

(ОФС.1.4.2.0014.15, ГФ XIV) или не менее 80% (ОФС.1.4.2.0014, ГФ XV) через 45 минут эксперимента (отметим различия в требованиях ГФ XIV, актуальной на период выполнения экспериментальной работы, и ГФ XV, действующей в настоящее время). В дальнейшем фосфатный буферный раствор с рН 6,8, являющийся одной из сред, имитирующих физиологические жидкости живого организма, был выбран для включения в проект нормативной документации.

Разработка состава и технологии прототипа препарата

Оригинальный препарат Эврензо выпускают в виде таблеток, покрытых пленочной оболочкой с дозировкой 20 мг, 50 мг, 70 мг, 100 мг и 150 мг. На лабораторном этапе фармацевтической разработки важно показать принципиальную возможность создания препарата в той или иной лекарственной форме, и с этой точки зрения, а также с точки зрения снижения затрат и экономии субстанции действующего вещества мы остановились на разработке состава таблеток с дозировкой 20 мг.

Для получения ядра таблетки на лабораторном этапе был опробован метод прямого

Таблица 6

ХАРАКТЕРИСТИКА МОДЕЛЬНЫХ ТАБЛЕТОК РОКСАДУСТАТА С ДОЗИРОВКОЙ 20 МГ

	Состав 1			Состав 2			Состав 3		
Угол естественного откоса, °	37±2			50±2			34±2		
Индекс Хауснера, Н	1,25±0,01			1,41±0,01			1,20±0,01		
Индекс Карра, J	20,54±0,12			29,01±0,15			16,63±0,10		
Оценка сжимаемости	Средняя			Плохая			Средняя		
Давление прессования, кгс/см ²	30	50	70	30	50	70	30	50	70
Высота, мм	4,23	4,15	4,10	4,32	4,18	4,11	4,18	4,10	4,05
Распадаемость, мин	–*	0,5±0,1	0,9±0,1	1,5±0,1	3,5±0,1	6,8±0,1	–	–	1,0±0,1

* Распадаемость не определяли, т. к. таблетка не соответствовала требованиям прочности

прессования, т. к. эта технология является приоритетной для влагочувствительных АФС. Данная технология современна, экономична и позволяет повысить качество таблетированных препаратов и их стабильность за счет исключения стадии увлажнения таблетной массы, ее сушки при повышенных температурах и сухой грануляции [39]. Для оценки возможности использования технологии прямого прессования для получения таблеток с исследуемой субстанцией роксадустата, исходя из собственного опыта и литературных данных об используемых соотношениях вышеперечисленных вспомогательных веществ, были получены прототипы трех составов с разным соотношением наполнителей (см. материалы и методы).

Все апробированные составы хорошо прессовались, таблетки хорошо выталкивались из матрицы. Однако для состава с соотношением лактоза:МКЦ 1:1 (состав 2) отмечена выраженная зависимость распадаемости

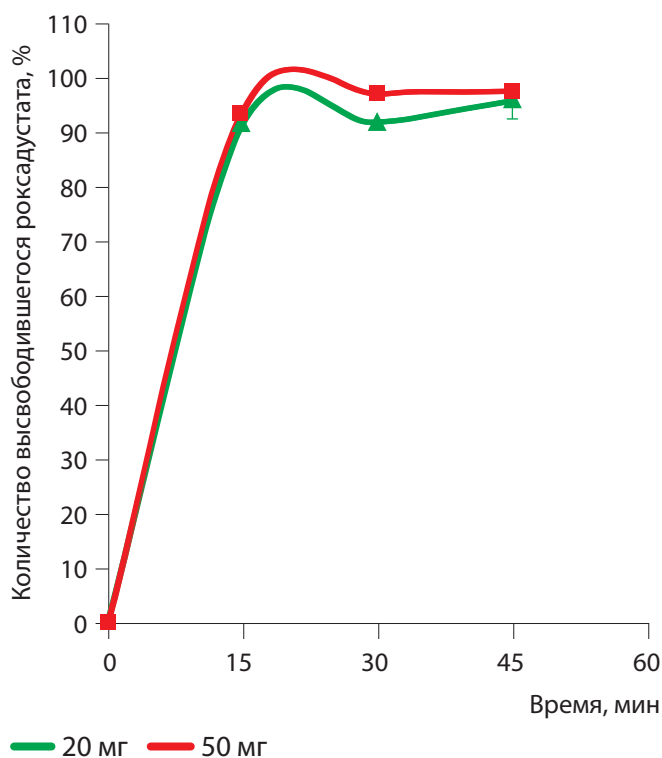


РИС. 3. Высвобождение роксадустата из таблеток с дозировкой 20 мг и 50 мг ($n=3$, $\text{среднее} \pm SD$)

от давления прессования, а для состава с соотношением лактоза:МКЦ 1:0 (состав 3) были необходимы более высокие давления прессования для получения таблеток удовлетворительного качества (табл. 6). Полученные данные позволили предположить, что состав 1 (с соотношением лактоза:МКЦ 2:1) обладает оптимальными технологическими свойствами. На основе данного состава были наработаны ядра таблеток с дозировкой 20 мг и 50 мг для оценки в тесте «Растворение» (испытание проводили в соответствии с требованиями ГФ XIV ОФС.1.4.2.0014.15, ГФ XV ОФС.1.4.2.0014 в условиях, подобранных на этапе изучения субстанции).

Установлено, что к 15-й минуте эксперимента высвобождается порядка 90% роксадустата как из таблеток с дозировкой 20 мг, так и из таблеток с дозировкой 50 мг (рис. 3), таким образом, изменение дозировки не повлияло на выход в среду высвобождения субстанции роксадустата.

В соответствии с требованиями ГФ для таблеток с немедленным высвобождением, в среду должно перейти не менее 75–80% действующего вещества через 45 минут эксперимента. Таким образом, подтверждено, что выбранные условия проведения теста «Растворение» подходят для оценки качества разрабатываемой лекарственной формы на основе субстанции роксадустата и тест может быть включен в состав нормативной документации.

Итак, в лабораторных условиях была показана возможность получения таблеток роксадустата с использованием технологии прямого прессования. Данные, полученные на лабораторном этапе фармацевтической разработки, были использованы при масштабировании предложенной технологии и легли в основу следующего этапа разработки состава и технологии препарата, осуществляемого в рамках планируемой производственной площадки, по результатам которого была наработана серия препарата для проведения ТСКР.

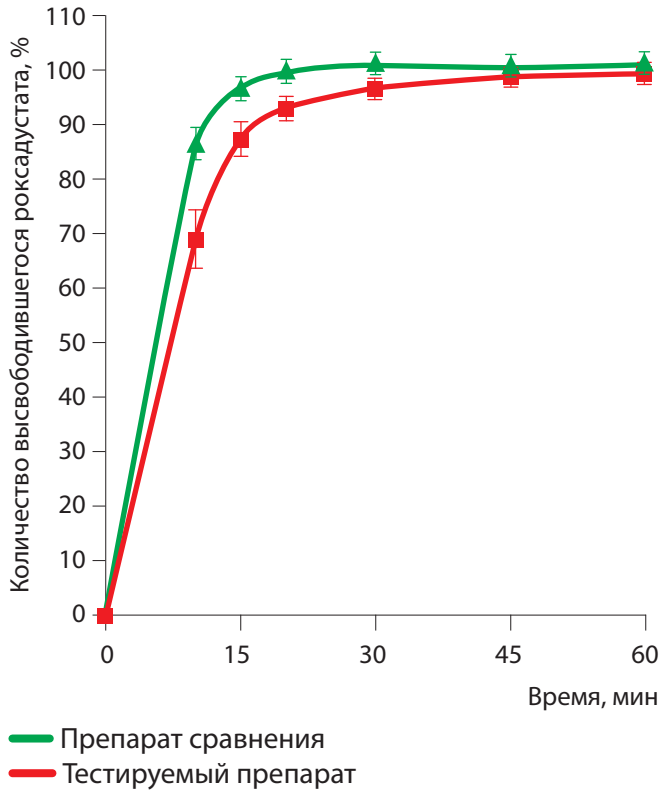


РИС. 4. Усредненные профили высвобождения роксадустата из исследуемого препарата и препарата сравнения в среде фосфатного буферного раствора с pH 6,8 (n=12, среднее±SD)

Результаты ТСКР

При изучении кинетики высвобождения действующего вещества роксадустат из исследуемого и референтного ЛП в среде контроля качества исследовали опытно-промышленную серию исследуемого препарата Роксадустат, которая показала эквивалентный профиль высвобождения действующего вещества референтному препарату Эврензо (рис. 4). Поскольку к 15 минутам эксперимента высвободилось более 85% роксадустата, кинетика высвобождения действующего вещества из исследуемого препарата данной серии и препарата сравнения признана эквивалентной без дальнейшей математической обработки данных.

В среде ацетатного буферного раствора с pH 4,5 высвобождение действующего вещества роксадустат из лекарственных

препаратов Эврензо и Роксадустат за 45 мин. составило менее 5%, в среде буферного раствора с pH 1,2 – менее 2%. Низкое высвобождение в данных средах, предположительно, связано с константой диссоциации субстанции роксадустата. Профили высвобождения действующего вещества в этих средах из исследуемого и референтного препаратов были одинаково низкими и не могли быть достоверно оценены математически.

ВЫВОДЫ

Таким образом, на примере разработки препарата роксадустат показана роль лабораторного этапа фармацевтической разработки, его поисковый характер, предусматривающий вариабельность в зависимости от исходных данных, полноты доступной информации, свойств АФС и разрабатываемой ЛФ. Полученные в ходе лабораторного этапа данные составляют основу дальнейшего масштабирования технологии создаваемого препарата и могут претерпеть значительные изменения в процессе перехода к условиям планируемой производственной площадки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Рискориентированный подход к созданию лекарственного препарата / Карлина М.В., Косман В.М., Абрамович Р.А. и др. // Консультант GLP-Planet. 2023. Мнение фармацевтической отрасли. – Санкт-Петербург: Акционерное общество «Научно-производственное объединение «Дом фармации», 2023: 45–74. DOI: 10.57034/978-5-6048955-2-8-s2.*
2. *Мельник А.А. Гипоксией индуцированный фактор для лечения анемии при хронической болезни почек // Роčki. 2018; 7(4): 311–321. DOI: 10.22141/2307-1257.7.4.2018.148522.*

3. Шутов Е.В., Горелова Е.Н., Сороколетов С.М. Ингибиторы пролилгидроксилазы индуцируемого гипоксией фактора в лечении анемии больных с хронической болезнью почек // *Эффективная фармакотерапия*. 2022; 18(3): 22–28. DOI: 10.33978/2307-3586-2022-18-3-22-28.
4. Zhu X., Jiang L., Wei X., Long M., Du Y. Roxadustat: Not just for anemia // *Front. Pharmacol.* 2022; 13: 971795. DOI: 10.3389/fphar.2022.971795.
5. Роксадустат [Электронный ресурс]: <https://www.medchemexpress.com/FG-4592.html> (дата обращения: 05.24).
6. Partition Coefficient Calculation [Электронный ресурс]: <https://www.acdlabs.com/products/percepta-platform/physchem-suite/logp/> (дата обращения 05.2024).
7. ZINC Database [Электронный ресурс]: <https://registry.opendata.aws/zinc15/> (дата обращения 05.2024).
8. Косман В.М., Карлина М.В., Тютина К.В., Макаров В.Г., Макарова М.Н., Морозов С.В., Гущина Е.Е., Журавская Н.В. Доклиническое изучение фармакокинетических процессов ADME фенозановой кислоты в системах *in vitro* и *in vivo* // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022; 20(3): 297–308. <https://doi.org/10.17816/RCF203297-308>.
9. Press B., Di Grandi D. Permeability for Intestinal Absorption: Caco-2 Assay and Related Issues // *Current Drug Metabolism*. 2008; 9(9): 893–900.
10. ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» // Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. – М.: МЗ РФ. – 2018. – Т. 1–4. – 7019 с.
11. ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» // Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. – М.: МЗ РФ. – 2023. (<https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/validatsiya-analiticheskikh-metodik/>).
12. Руководство по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств. Утв. Решением коллегии стран ЕЭК от 17.07.2018 №113. 2018. – 26 с.
13. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств. – М.: Министерство здравоохранения и социального развития РФ. 2007. – 49 с.
14. ICH, Q2A, Harmonized tripartite guideline, text on validation of analytical procedures, IFPMA, in: *Proceedings of the International Conference on Harmonization, Geneva, March 1994*, pp. 1–5.
15. ICH, Q2B, Harmonized tripartite guideline, validation of analytical procedure: methodology, IFPMA, in: *Proceedings of the International Conference on Harmonization, Geneva, March 1996*, pp. 1–8.
16. ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» // Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. – М.: МЗ РФ. – 2018. – Т. 1–4. – 7019 с.
17. ОФС.1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» // Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. – М.: МЗ РФ. – 2023 (<https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/stabilnost-i-sroki-godnosti-lekarstvennykh-sredstv/>).
18. ГОСТ Р 57129-2016 «Лекарственные средства для медицинского применения (часть 1). Изучение стабильности новых фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов. Общие положения».
19. Решение Совета ЕЭК №85 от 3 ноября 2016 г. «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза».
20. Фармакопея ЕАЭС 2.1.9.3. «Испытание на растворение для твердых дозированных лекарственных форм».
21. ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» //

- Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. – М.: МЗ РФ. – 2018. – Т. 1–4. – 7019 с.
22. ОФС.1.4.2.0014 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» // Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. – М.: МЗ РФ. – 2023 (<https://pharmascopeia.regmed.ru/pharmascopeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/rastvorenie-dlya-tvyerdykh-dozirovannykh-lekarstvennykh-form/>).
 23. Ешманова С.В. Промышленный контроль формы и размера частиц лекарственных субстанций // Фармацевтические технологии и упаковка. <http://www.medbusiness.ru/365.php> (дата обращения 05.2024).
 24. Фармацевтическая разработка: концепция и практические рекомендации. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли / Под ред. С.Н. Быковского – М. Изд-во «Перо», 2015. – 472 с.
 25. ОФС.1.4.2.0016.15 «Определение сыпучести порошков» // Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. – М.: МЗ РФ. – 2018. – Т. 1–4. – 7019 с.
 26. ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков» // Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. – М.: МЗ РФ. – 2023 (<https://pharmascopeia.regmed.ru/pharmascopeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/sypuchest-poroshkov/>).
 27. Демина Н.Б. Биофармацевтическая классификационная система как инструмент разработки дизайна и технологии лекарственной формы // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017; 2: 56–60.
 28. Groenendaal-van de Meent, D., den Adel, M., van Dijk, J. et al. Effect of Multiple Doses of Omeprazole on the Pharmacokinetics, Safety, and Tolerability of Roxadustat in Healthy Subjects // *Eur.J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 2018; 43: 685–692. <https://doi.org/10.1007/s13318-018-0480-z>
 29. Meloun M., Pilarova L., Javfuek M., Pekarek T. Multiwavelength UVmetric and pH-metric determination of the dissociation constants of the hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitor Roxadusta // *Journal of Molecular Liquids.* 2018; 268: 386–402.
 30. Шохин И.Е., Раменская Г.В. Методы прогнозирования кишечной проницаемости лекарственных веществ с применением компьютерного моделирования // *Биомедицина.* 2011; 2: 35–40.
 31. Bohets H., Annaert P., Mannens G. et al. Strategies for absorption screening in drug discovery and development // *Current Topics in Medical Chemistry.* 2001. 1(5): 367–83. DOI: 10.2174/1568026013394886.
 32. Marugan J.J., Xiao J., Zheng W., Southall N., Dehdashti S., Cunningham L., Liu P.P. ML223: A Small Molecule Probe With In Vivo Activity Against Acute Myeloid Leukemia Subtype M4Eo // *Probe Reports from the NIH Molecular Libraries Program: National Center for Biotechnology Information (US).* [Электронный ресурс]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK133444/#ml223.s32>
 33. Mahajan R., Samanthula G., Srivastava S., Asthana A. A critical review of Roxadustat formulations, solid state studies, and analytical methodology // *Heliyon.* 2023. 1; 9 (6): e. 16595. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16595.
 34. Фармацевтические составы ингибиторов hif-гидроксилазы, патент RU [Электронный ресурс]. https://yandex.ru/patents/doc/RU2681304C2_20190306 (дата обращения 05.2024).
 35. Смехова И.Е., Перова Ю.М., Кондратьева И.А., Родыгина А.Н., Турецкова Н.Н. Тест «Растворение» и современные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов (обзор) // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2013; 1(2): 50–61.
 36. Игнатьева Е.В., Шпрах З.С., Ярцева И.В., Санарова Е.В. Тест «Растворение» как элемент комплексной оценки качества капсул,

- содержащих секоизоларицирезинол // Российский биотерапевтический журнал. 2019; 18(1): 95–100. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2019-18-1-95-100>
37. Зырянов С.К., Бутранова О.И., Раменская Г.В., Гильдеева Г.Н., Шохин И.Е. Оценка эквивалентности *in vitro* воспроизведенных препаратов бетагистина как инструмента, потенциально определяющего эффективность фармакотерапии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018; 118(11): 43–48.
38. Гребенкин Д.Ю., Станишевский Я.М., Шохин И.Е. Современные подходы к проведению сравнительного теста кинетики растворения (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016; (1): 166–171.
39. Ешманова С.В. Методологические подходы к выбору вспомогательных веществ для получения таблетированных препаратов методом прямого прессования // Химико-фармацевтический журнал. 2008; 2(42): 38–43.

LABORATORY STAGE OF PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT OF A GENERIC DRUG ROXADUSTAT FOR ORAL USE

M.V. Karlina¹, V.M. Kosman¹, A.I. Kuznetsova¹, V.Yu. Balabanyan², M.F. Fazylov², M.N. Makarova¹, V.G. Makarov¹

¹ JSC "Research and Production Association "House of Pharmacy", Leningrad region, Russia

² LLC "Gelespon" Moscow, Russia

The high-quality drug creation is based on adequately planned research at the laboratory stage of pharmaceutical development. The purpose of the study was to conduct a laboratory stage of pharmaceutical development of a generic drug Roxadustat (a prolyl hydroxylase inhibitor intended for the treatment of anemia in patients with chronic kidney disease) under minimal initial information conditions. Preformulation studies for the substance were carried out, biopharmaceutical properties were studied, and the possibility of tablets producing by direct compression was tested; comparative dissolution kinetics test (CDKT) was performed for the tablets pilot batch. Unsatisfactory flowability and low solubility of the substance were established; its class according to the biopharmaceutical classification system (class II) was determined, it was shown that Roxadustat moderately absorbs moisture and is prone to decomposition in light and in the presence of oxygen. The introduction of fillers, disintegrants, glidants and solubilizers into the drug composition is justified, and the tablets technology by direct pressing was proposed. For the test "Dissolution" the optimal medium was selected, in this media Roxadustat release kinetics from the experimental-industrial batch of the developed drug and the reference drug (Evrenzo) were recognized as equivalent. The laboratory stage of pharmaceutical development is characterized by variability depending on the completeness of the initial data of the substance and developed dosage form properties and is the basis for further scaling of the created drug technology.

Keywords: Roxadustat, drug development, active pharmaceutical ingredient, pre-formulation studies, tablets, technology