

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202290175** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2022.04.01**

(51) Int. Cl. **G01N 33/15** (2006.01)  
**A61K 9/00** (2006.01)  
**A61K 31/00** (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2020.06.25**

---

(54) **БИОРЕЛЕВАНТНЫЕ СРЕДЫ РАСТВОРЕНИЯ**

---

(31) **201911025939**

(72) Изобретатель:

(32) **2019.06.28**

**Джоджия Хитеш, Кансара Бхавик (IN)**

(33) **IN**

(74) Представитель:

(86) **PCT/EP2020/067902**

**Медведев В.Н. (RU)**

(87) **WO 2020/260499 2020.12.30**

(71) Заявитель:

**ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)**

---

(57) В изобретении раскрыты биорелевантные среды растворения, в которых используются соли фосфонохолевой кислоты в сочетании с полисорбатом. Эта специально подобранная комбинация поверхностно-активных средств, очевидно, образует смешанные мицеллы, аналогичные мицеллам, которые образуются в доступных в настоящее время биорелевантных средах, она быстрее и проще в приготовлении, образует среды растворения с хорошей воспроизводимостью и стабильным результатом и хорошо соответствует предсказываемым свойствам доступной в настоящее время биорелевантной среды растворения и, таким образом, полезна для прогнозирования *in vivo* поведения лекарственных форм слабо растворимых в воде препаратов.

**202290175**

**A1**

**A1**

**202290175**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-571800EA/032

### БИОРЕЛЕВАНТНЫЕ СРЕДЫ РАСТВОРЕНИЯ

Область техники, к которой относится изобретение

В данном документе раскрыты биорелевантные среды растворения с использованием соли фосфонохолевой кислоты в комбинации с полисорбатом. Эта специально подобранная комбинация поверхностно-активных средств, очевидно, образует смешанные мицеллы, аналогичные мицеллам, которые образуются в доступных в настоящее время биорелевантных средах, она быстрее и проще в приготовлении, образует среды растворения с хорошей воспроизводимостью и стабильным результатом и хорошо соответствует предсказываемым свойствам доступных в настоящее время биорелевантных сред растворения и, таким образом, полезна для прогнозирования *in vivo* поведения лекарственных форм слаборастворимых в воде препаратов.

Предпосылки к созданию изобретения

Биорелевантные среды растворения являются основным аналитическим инструментом для оценки *in vivo* фармакокинетики лекарственных препаратов. Современные классические биорелевантные среды содержат природные желчные кислоты, такие как таурохолат натрия (NaTC) в качестве основного поверхностно-активного вещества (ПАВ), а также природный лецитин в качестве вторичного липофильного ПАВ. Желчные кислоты имеют плоскую структуру, включающую гидрофильные гидроксильные группы на  $\alpha$  (альфа)-поверхности, в то время как гидрофобные метильные группы направлены в сторону от  $\beta$  (бета)-поверхности. Лецитин, который представляет собой нерастворимое в воде амфипатическое ПАВ, образует смешанные мицеллы (European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 88 (2014) 565-573) с солями желчных кислот в водной среде. Эти смешанные мицеллы способны сольбилизовать плохо растворимые в воде лекарства аналогично желудочно-кишечным сокам и, таким образом, воспроизводить условия *in vivo*. Сольбилизация лекарств смешанными мицеллами, присутствующими в биорелевантных средах, отличается от сольбилизации мицеллами, содержащими синтетические ПАВ, такие как лауретсульфат натрия (SLS) и цетилтриметиламмония бромид (СТАВ). Их разные мицеллярные структуры обычно приводят к отличающимся сольбилизирующим свойствам. В современных биорелевантных средах используют дорогое сырье из различных природных источников, они требуют длительного и сложного приготовления (перемешивание в течение ночи) и характеризуются непродолжительной оптической и физической стабильностью (1 день). Разные природные источники и процессы экстракции лецитина и таурохолата натрия приводят к разной чистоте вещества и могут изменять результаты растворения лекарственного средства.

При разработке лекарственного препарата *in vitro* тестирование растворения в биорелевантных средах важно для оценки вероятного поведения *in vivo* потенциальных препаратов. Имитации кишечного сока в состоянии натощак и после еды - FaSSIF и

FeSSIF - были впервые описаны у Galia E. et al. *Pharmaceutical Research* Vol. 15, No. 5, 1998, их несколько раз модифицировали как FaSSIF V2 и FeSSIF V2 (Jantravid, E. et al. *Pharmaceutical Research*, Vol. 25, No. 7, July 2008 г.) и FaSSIF V3 (Fuchs A. et al. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 94 (2015), 229-240).

Твердый лиофилизированный порошок, содержащий смесь натуральных солей желчных кислот и лецитина, поступает в продажу, что сокращает время приготовления биорелевантных сред. Однако агрегация мицелл, гидролиз, окисление липидов и рост микробов являются одними из факторов, ограничивающих оптическую прозрачность и стабильность этих доступных в настоящее время биорелевантных сред.

Учитывая, что биорелевантные среды являются важным инструментом в ходе разработки продукта и имеют свои ограничения, было предпринято несколько попыток упростить биорелевантные среды, заменив природные ПАВ синтетическими ПАВ, такими как SLS и полисорбаты. Было обнаружено, что ни одно из этих синтетических ПАВ не образовывало мицеллы, подобные по структуре кишечным мицеллам или мицеллам доступной биорелевантной среды, и в результате часто приводили к неправильной классификации профилей растворимости, например, при сравнении различных рецептур определенного лекарственного средства.

Среды растворения, содержащие только 24-фосфонохоловую кислоту, известны из Jogi H; et al. *Dissolution Technologies*, 14-19 Aug 2009, но отсутствие гидрофобного компонента, такого как лецитин, может неадекватно имитировать кишечный сок человека и недооценивать или переоценивать растворение *in vivo*, особенно в случае плохо растворимых в воде лекарств.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На ФИГ. 1 показаны микроскопические изображения Cryo-TEM среды растворения.

- a - Новая упрощенная биорелевантная среда концепции 1 натощак;
- b - Новая упрощенная биорелевантная среда концепции 2 натощак;
- c - Новая упрощенная биорелевантная среда концепции 1 после еды; и
- d - Новая упрощенная биорелевантная среда концепции 2 после еды.

ФИГ. 2 представляет собой спектр DOSY ЯМР новой упрощенной биорелевантной среды концепции 2 после еды.

ФИГ. 3 представляет собой спектр DOSY ЯМР среды, содержащей только динатриевую соль синтетической фосфонохоловой кислоты.

ФИГ. 4 представляет собой спектр DOSY ЯМР среды, содержащей только полисорбат.

На ФИГ. 5 показано двухфазное растворение таблеток 300 мг канаглифлозина в кишечной среде после еды.

На ФИГ. 6 показано двухфазное растворение таблеток 300 мг канаглифлозина в кишечной среде натощак.

На ФИГ. 7 показано двухфазное растворение таблеток 560 мг ибрутиниба в

кишечной среде натощак.

На ФИГ. 8 показано растворение капсул 100 мг итраконазола в кишечной среде натощак.

На ФИГ. 9 показано растворение капсул 100 мг итраконазола в кишечной среде после еды.

Подробное описание изобретения

Мы раскрываем новую упрощенную биорелевантную среду, содержащую синтетическую соль фосфонохолевой кислоты в комбинации с полисорбатом. Эта среда имитирует существующую биорелевантную среду растворения, но характеризуется простым, быстрым и воспроизводимым приготовлением. Для новой упрощенной биорелевантной среды используется синтетическое сырье, следовательно, можно получать сырье с высокой чистотой, что позволяет получать новую упрощенную биорелевантную среду более постоянного состава по сравнению с классической биорелевантной средой, содержащей натуральные ингредиенты. Новые упрощенные биорелевантные среды имитируют существующие биорелевантные среды растворения в желудочно-кишечных условиях натощак и после еды, вероятно, с аналогичными солубилизирующими свойствами.

Синтетические фосфонохолевые кислоты 1 (n=1; 23-фосфонохолевая кислота - 23-РСА или 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -тригидрокси-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-фосфоновая кислота) и 2 (n=2; 24-фосфонохолевая кислота - 24-РСА или 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -тригидрокси-5 $\beta$ -холан-24-фосфоновая кислота) известны из Steroids 70 (2005) 681-689, структура их ядра соответствует природным солям желчных кислот, и они склонны демонстрировать такую же картину солубилизации (схема 1).

Полисорбаты представляют собой смеси полиоксиэтилен-20-сорбитана и неполных эфиров жирных кислот (лауриновой, пальмитиновой, стеариновой, олеиновой кислоты) и представляют собой гидрофильные неионные ПАВ, которые могут заменять лецитин в искусственных кишечных соках.

Новую упрощенную биорелевантную среду можно адаптировать так, чтобы она напоминала физиологические свойства желудочно-кишечного тракта в условиях натощак и после еды в отношении буферной емкости, поверхностного натяжения, pH и осмоляльности.

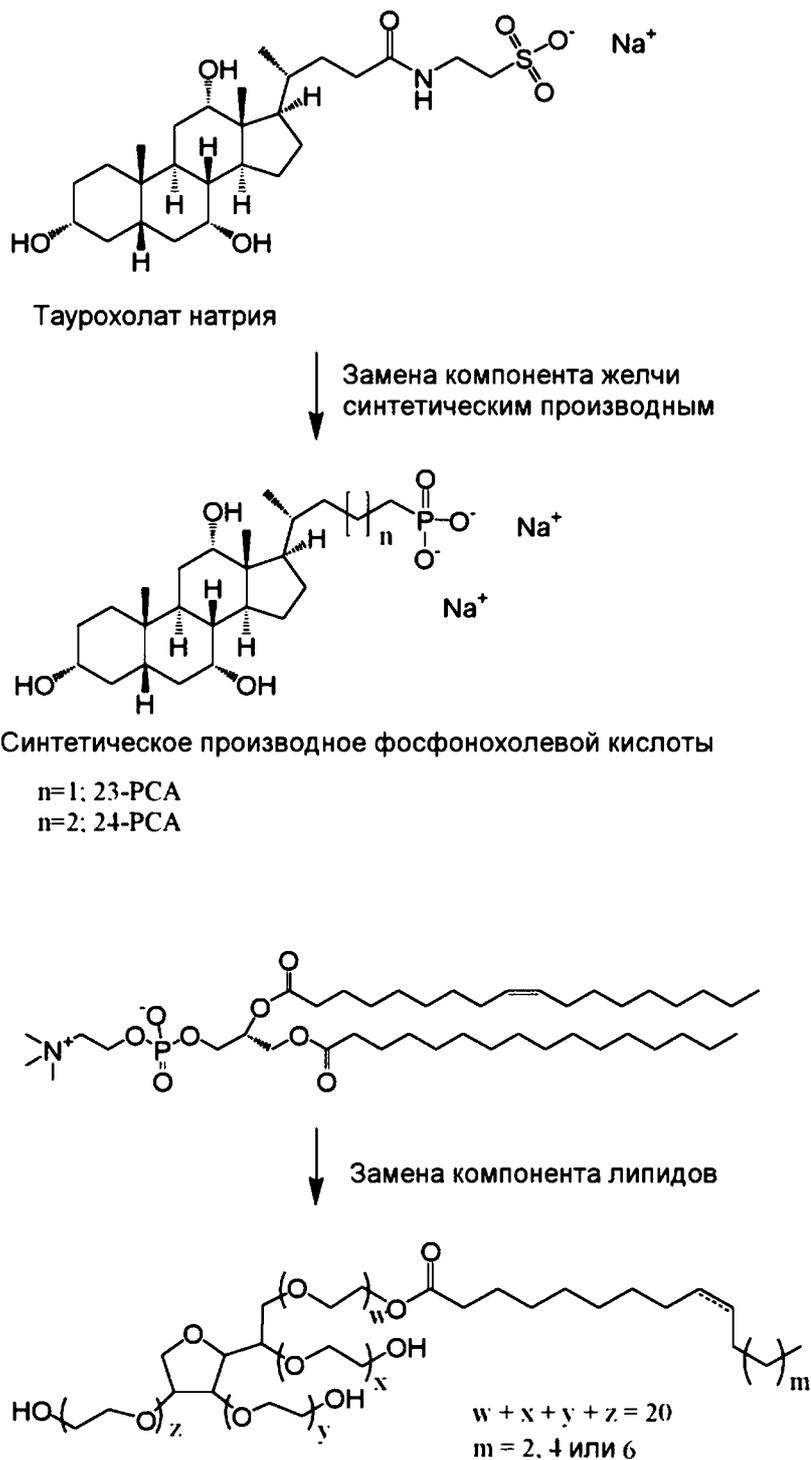


Схема 1. Сравнение структур солей желчных кислот и лецитина с синтетическим ПАВ и полисорбатом.

Преимущество раскрываемых здесь сред растворения, содержащих синтетические фосфонохолевые кислоты и полисорбаты в различных концентрациях, заключается в предоставлении среды растворения, имитирующей классические биорелевантные среды. Другое преимущество состоит в том, что смешанные мицеллы новой среды растворения ведут себя аналогично поведению в биорелевантных средах. Основное преимущество новых сред для растворения заключается в простоте их приготовления по сравнению с

классическими биорелевантными средами. Кроме того, они стабильны в течение более длительного срока (от 5 до 7 дней). Более того, новые упрощенные биорелевантные среды содержат только синтетические ПАВ высокой степени чистоты, что делает их постоянно однородными, что приводит к более воспроизводимым результатам. Кроме того, новую упрощенную биорелевантную среду можно использовать в качестве физиологически релевантной среды для контроля качества и тестирования высвобождения в ходе поставок. Другое преимущество изобретения состоит в том, что новые упрощенные биорелевантные среды являются оптически прозрачными с минимальным фоновым поглощением, что позволяет использовать их в спектроскопических методах детектирования, и их применение может быть расширено для автоматических методик и/или высокопроизводительных методик.

В некоторых вариантах осуществления раскрываемых здесь сред биорелевантная среда растворения напоминает желудочно-кишечный сок и включает мицеллярный раствор, содержащий синтетическое производное фосфонохолевой кислоты, полисорбат, буферные компоненты и осмотический агент; где мольное соотношение синтетического производного фосфонохолевой кислоты и полисорбата составляет от примерно 1:1 до 20:1, в частности, от примерно 3:2 до 15:1, более конкретно - от 2:1 до 6:1.

В некоторых вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда имитирует состояние кишечного сока натошак путем регулирования ее pH в пределах от примерно 6 до 7.

В некоторых вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда, имитирующая кишечный сок натошак, имеет осмоляльность менее 300 мОсмоль/кг, в частности, от 220 до 300 мОсмоль/кг.

В некоторых вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда имитирует состояние кишечного сока после еды путем регулирования ее pH до примерно 4.

В некоторых вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда, имитирующая кишечный сок после еды, имеет осмоляльность менее 700 мОсмоль/кг, в частности, от 600 до 700 мОсмоль/кг.

В определенных вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда включает полисорбат, который выбран из группы полисорбатов, состоящей из полисорбата 20 (полиоксиэтилен (20) сорбитана монолаурата), полисорбата 80 (полиоксиэтилен (20) сорбитана моноолеата), полисорбата 40 (полиоксиэтилен (20) сорбитана монопальмитата) полисорбата 60 (полиоксиэтилен (20) сорбитана моностеарата), полисорбата 65 (полиоксиэтилен (20) сорбитана тристеарата) и полисорбата 85 (полиоксиэтилен (20) сорбитана триолеата).

В некоторых вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда содержит хлорид натрия в качестве осмотического средства.

В некоторых вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда содержит дигидрофосфат натрия в качестве буферного реагента и хлорид натрия в качестве осмотического средства.

В определенных вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда включает динатриевую соль 23-фосфонохолевой кислоты или 24-фосфонохолевой кислоты.

В определенных вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда напоминает кишечный сок человека в условиях натощак и содержит ингредиенты

- a) динатрий 24-фосфонохолевая кислота 3 мМ
- b) полисорбат 80 0,75 мМ
- c) дигидрофосфат натрия 3,95 г
- d) натрия хлорид 6,18 г
- e) натрия гидроксид 0,35 г
- f) вода до 1 л.

В определенных вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда напоминает кишечный сок человека в условиях натощак и содержит ингредиенты

- a) динатрий 24-фосфонохолевая кислота 3 мМ
- b) полисорбат 80 1,5 мМ
- c) дигидрофосфат натрия 3,95 г
- d) натрия хлорид 6,18 г
- e) натрия гидроксид 0,35 г
- f) вода до 1 л.

В определенных вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда напоминает кишечный сок человека в условиях после еды и содержит ингредиенты

- a) динатрий 24-фосфонохолевая кислота 15 мМ
- b) полисорбат 80 3,75 мМ
- c) уксусная кислота 8,65 г
- d) натрия хлорид 11,8 г
- e) натрия гидроксид 4,04 г
- f) вода до 1 л.

В определенных вариантах осуществления раскрываемых здесь сред среда напоминает кишечный сок человека в условиях после еды и содержит ингредиенты

- a) динатрий 24-фосфонохолевая кислота 15 мМ
- b) полисорбат 80 7,5 мМ
- c) уксусная кислота 8,65 г
- d) натрия хлорид 11,8 г
- e) натрия гидроксид 4,04 г
- f) вода до 1 л.

В некоторых вариантах осуществления описанные здесь среды могут быть приготовлены путем индивидуального взвешивания и растворения ингредиентов в воде.

В некоторых вариантах осуществления изобретения описанные здесь среды можно использовать для тестирования растворимости, тестирования растворения, оценки высвобождения лекарственного средства, IVIVC, перенасыщения лекарственного

средства, выпадения в осадок лекарственного средства и тестирования стабильности лекарственного средства.

В определенных вариантах осуществления изобретения описанные здесь среды можно использовать для тестирования растворения, включающего добавление лекарственной формы в среду растворения, как определено выше, и измерение через регулярные интервалы времени концентрации интересующего аналита или аналитов.

Влияние концентрации лецитина на солюбилизирующую способность существующих сред растворения выше для плохо растворимых лекарственных средств, имеющих более высокое значение  $\log P$ ; таким образом, важно, чтобы характеристики солюбилизации липофильных лекарственных средств в новых упрощенных биорелевантных средах соответствовали характеристикам классических биорелевантных сред. Лецитин был заменен на полисорбат в новой упрощенной биорелевантной среде с использованием двух подходов, учитывающих солюбилизирующую способность и липофильность лекарственного вещества.

Для замены лецитина на полисорбаты использовали два подхода:

1. Молярная замена - замена лецитина в новой упрощенной биорелевантной среде на эквимольное количество полисорбата (концепция 1), которую можно использовать для менее липофильных препаратов.

2. Стехиометрическая замена липофильного характера - замена лецитина (имеющего 2 углеводородные цепи) на 2 молярных эквивалента полисорбатов, чтобы соотнести липофильные свойства новой упрощенной биорелевантной среды с классической биорелевантной средой (концепция 2).

Новая упрощенная биорелевантная среда, раскрытая в настоящем документе, предназначена для использования в подходах к однофазному растворению для изучения того, как условия желудка или кишечника влияют на высвобождение лекарственного препарата, а также в подходах к двух- или многофазному растворению, имитирующих *in vivo* транзит из желудка в кишечник в одном сосуде для изучения воздействия желудочной фазы на лекарственный продукт до воздействия в кишечнике.

Экспериментальная часть

Физико-химическая охарактеризация новой упрощенной биорелевантной среды

Чтобы достичь высшей степени биорелевантности с *in vivo* кишечным соком человека, среда должна иметь значения pH, буферной емкости, осмоляльности, компонентов желчи, компонентов липидов и поверхностного натяжения, близких к значениям кишечного сока человека. Были определены различные физико-химические свойства новой упрощенной биорелевантной среды, при этом было обнаружено, что среда имеет значения, аналогичные показателям классической биорелевантной среды и кишечного сока человека в условиях натощак и после еды. Состав и физико-химические характеристики новой упрощенной биорелевантной среды представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Предлагаемая новая упрощенная биорелевантная кишечная среда натощак

| Соединение/параметр (1 л)                        | концепция 1<br>натошак                    | концепция 2<br>натошак                    |
|--|---|---|
| Синтетическое производное фосфонохолевой кислоты | 3 мМ                                      | 3 мМ                                      |
| Полисорбат                                       | 0,75 мМ                                   | 1,5 мМ                                    |
| Соотношение Желчь: Полисорбат                    | 4:1                                       | 2:1                                       |
| Дигидрофосфат натрия                             | 3,95 г                                    | 3,95 г                                    |
| Хлорид натрия                                    | 6,18 г                                    | 6,18 г                                    |
| Гидроксид натрия                                 | 0,35 г                                    | 0,35 г                                    |
| pH   | 6,5                                       | 6,5                                       |
| Поверхностное натяжение (мН/м)                   | 41,14                                     | 43,51                                     |
| Осмолярность (мОсмоль/кг)                        | 263                                       | 262                                       |
| Емкость буфера                                   | 9 ммоль л <sup>-1</sup> ΔрН <sup>-1</sup> | 9 ммоль л <sup>-1</sup> ΔрН <sup>-1</sup> |

Таблица 2. Предлагаемая новая упрощенная биорелевантная кишечная среда после еды.

| Соединение/параметр (1 л)                        | концепция 1 после<br>еды                   | концепция 2 после<br>еды                   |
|--|--|--|
| Синтетическое производное фосфонохолевой кислоты | 15 мМ                                      | 15 мМ                                      |
| Полисорбат                                       | 3,75 мМ                                    | 7,5 мМ                                     |
| Соотношение Желчь: Полисорбат                    | 4:1  | 2:1  |
| Уксусная кислота                                 | 8,65 г                                     | 8,65 г                                     |
| Хлорид натрия                                    | 11,8 г                                     | 11,8 г                                     |
| Гидроксид натрия                                 | 4,04 г                                     | 4,04 г                                     |
| pH   | 5  | 5  |
| Поверхностное натяжение (мН/м)                   | 35   | 37   |
| Осмолярность (мОсмоль/кг)                        | 661  | 662  |
| Емкость буфера                                   | 78 ммоль л <sup>-1</sup> ΔрН <sup>-1</sup> | 78 ммоль л <sup>-1</sup> ΔрН <sup>-1</sup> |

Микроскопическая охарактеризация новой упрощенной биорелевантной среды

Микроскопическую охарактеризацию мицеллярной структуры в новой упрощенной биорелевантной среде проводили с использованием крио-трансмиссионной электронной микроскопии (Cryo-TEM), которая является полезным инструментом для визуализации и характеристики коллоидных частиц. Изображения Cryo-TEM были получены путем быстрого охлаждения образца, что позволяет сохранить образец как можно ближе к исходному состоянию и обеспечивает четкое изображение мицеллярных

наноструктур. Изображения были получены с помощью ПЗС-камеры высокого разрешения Orius Gatan. Изображения, сделанные при разном увеличении, анализировали с помощью программного обеспечения Gatan Digital Micrograph. Основными исследуемыми параметрами были размер частиц и мицеллярные наноструктуры. Изображение новой среды растворения, полученное методом Cryo-ТЕМ, демонстрирует наличие многочисленных круглых структур, соответствующих сферическим мицеллам, все из которых имеют почти 100% сферическую форму с соотношением сторон, равным единице, и почти 100% из них - однослойные, как показано на ФИГ. 1. Размер мицелл, образующихся в среде, составляет от 1 до 150 нм, что соответствует мицеллам, обнаруженным в классических биорелевантных средах.

Охарактеризация смешанных мицелл в новой упрощенной биорелевантной среде с помощью DOSY ЯМР

DOSY (диффузионно упорядоченная спектроскопия) - это метод, который разделяет сигналы ЯМР в смеси на основе различий в их коэффициентах диффузии, которые, в свою очередь, зависят от формы и размера молекулы. Результат эксперимента DOSY может быть представлен в виде двухмерной карты, на которой каждое пятно характеризуется  $^1\text{H}$  химическим сдвигом и коэффициентом диффузии соответствующей молекулы для определения природы образовавшейся мицеллы/агрегата. DOSY ЯМР позволил одновременно определить молекулярный состав и размер мицелл, в то время как смещение положения пика в одномерных ЯМР-спектрах использовали для исследования и подтверждения взаимодействий между молекулами полисорбата и синтетическими производными фосфонохолевой кислоты внутри смешанной мицеллы.

Вкратце, для сравнения и определения конформации смешанных мицелл были приготовлены три различные среды растворения для состояния после еды в дейтерированной воде, содержащие новую упрощенную биорелевантную среду концепции 2 после еды, только синтетическое производное фосфонохолевой кислоты и только полисорбат. Условия после еды были выбраны для оценки смешанных мицелл с учетом более высокой концентрации ПАВ. Спектр DOSY ЯМР этих сред представлен на ФИГ. 2, 3 и 4, соответственно.

Горизонтальные поперечные сечения через спектр DOSY новой упрощенной биорелевантной среды концепции 2 после еды (ФИГ. 2) с коэффициентом диффузии  $0,07 \text{ мм}^2/\text{кс}$  показывают спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР, который представляет собой наложение двух наборов сигналов. Сигналы между 3,7 и 4,0 м.д. относятся к синтетическому производному фосфонохолевой кислоты, тогда как сигналы от 3,5 до 3,7 м.д. относятся к полисорбатам. Это показывает, что синтетическое производное фосфонохолевой кислоты и полисорбат присутствуют в смешанных мицеллах/агрегатах.

Дальнейшие доказательства присутствия смешанных мицелл в новой упрощенной биорелевантной среде концепции 2 после еды подтверждаются тонкими различиями, наблюдаемыми между химическими сдвигами сигналов  $^1\text{H}$ -ЯМР в различных горизонтальных сечениях спектров DOSY.  $^1\text{H}$ -ЯМР химические сдвиги сигналов в

поперечном сечении при  $0,07 \text{ мм}^2/\text{кс}$  спектров DOSY новой упрощенной биорелевантной среды концепции 2 после еды (ФИГ. 2) отличаются от спектров в поперечном сечении при  $0,23 \text{ мм}^2/\text{кс}$  спектров DOSY синтетического производного фосфонохолевой кислоты (ФИГ. 3). Кроме того, два сигнала между 0,95 и 1,05 м.д. в спектрах производных синтетической фосфонохолевой кислоты отсутствуют в спектре новой упрощенной биорелевантной среды концепции 2 после еды (ФИГ. 2). Точно так же три различных поперечных сечения, относящихся к полисорбатам (при  $1,7 \text{ мм}^2/\text{кс}$ - спектров DOSY среды с одним полисорбатом (ФИГ.4) и при 0,98 и  $0,07 \text{ мм}^2/\text{кс}$  спектров DOSY новой упрощенной биорелевантной среды концепции 2 после еды (ФИГ.3) показывают трудно уловимые, но значительные изменения в химических сдвигах  $^1\text{H}$ -ЯМР.

Эти изменения в химических сдвигах убедительно свидетельствуют о том, что химическое окружение синтетического производного фосфонохолевой кислоты и молекул полисорбата отличается в новой упрощенной биорелевантной среде концепции 2 после питания по сравнению со средой, содержащей только синтетическое производное фосфонохолевой кислоты, и средой, содержащей только полисорбат. Это можно объяснить только тем, что синтетическое производное фосфонохолевой кислоты и молекулы полисорбата находятся в тесном контакте в новой упрощенной биорелевантной среде концепции 2 после питания, тем самым подтверждая образование смешанных мицелл.

#### Оценка растворения новых упрощенных биорелевантных сред

Оценку растворения в новой упрощенной биорелевантной среде проводили на трех плохо растворимых лекарствах, из которых два принадлежали к классу II по BCS и один - к классу IV по BCS с более низкими и более высокими значениями  $\log P$ . Вследствие их плохой растворимости, их растворение зависит от смешанных мицелл, присутствующих в кишечных соках. Таким образом, любое сходство в растворении таких лекарств означает сходство с *in vivo*. Профили растворения указанных лекарств были получены в классической биорелевантной среде и в новой упрощенной биорелевантной среде концепции 1 или 2 в условиях натощак и после еды для сравнения между собой.

Для оценки среды использовали два подхода, один из которых был подходом с двухфазным растворением, а другой был однофазным подходом. Подход с двухфазным растворением моделирует переход лекарственного препарата из желудочных в кишечные условия в одном сосуде. Этот подход помогает понять влияние желудочной фазы на лекарственный продукт до его попадания в условия в кишечнике. Однофазный подход используется, когда желудочные и кишечные условия исследуются отдельно, в разных сосудах.

Пример 1. Канаглифлозин представляет собой нейтральную молекулу BCS класса IV, *in vivo* эффект от которой зависит от приема пищи. Растворение проводили в двухфазном режиме в условиях после еды. Целью этого примера было сравнить растворение *in vitro* пероральных таблеток с немедленным высвобождением канаглифлозина (300 мг) в эксперименте с двухфазным растворением, состоящем из

первой желудочной фазы из 300 мл 0,05 М фосфатного буфера с рН 4,9, с последующей второй кишечной фазой из 900 мл классической биорелевантной среды для состояния после еды и новой упрощенной биорелевантной среды концепции 1 после еды с рН 5. На первом этапе таблетки перемешивали в течение 60 минут при 75 об/мин, используя лопастный аппарат USP типа II, а затем в течение 60 минут в среде, имитирующей состояние после еды (вторая фаза). Результаты этого примера демонстрируют, что средний профиль растворения в новой упрощенной биорелевантной среде концепции 1 после еды соответствовал таковому для среды FeSSIF. Профили растворения были быстрыми в обеих средах, и условия предельного разбавления были достигнуты в новой упрощенной биорелевантной среде концепции 1, поэтому дальнейший эксперимент с новой упрощенной биорелевантной средой концепцией 2 не проводили. Состояние предельного разбавления означает, что среда растворения обладает способностью растворять, по крайней мере, в три раза больше лекарственного средства в исследуемой лекарственной форме.

Пример 2. Двухфазное растворение проводили для канаглифлозина (300 мг) в условиях натощак. В данном случае была выбрана новая упрощенная биорелевантная Таблица 3. Усредненные результаты растворения таблеток канаглифлозина 300 мг с помощью лопастного аппарата при 75 об/мин с использованием двух фаз из фосфатного буфера, 300 мл, рН 4,9, за которой следует кишечная среда в состоянии после еды, 900 мл, рН 5 при 37°C (N=3)

| Время<br>(мин) | Растворенное количество (%) |      |         |   |      |         |
|----------------|-----------------------------|------|---------|---|------|---------|
|                | FeSSIF                      |      |         | Новая упрощенная<br>биорелевантная среда<br>концепция 1 после еды |      |         |
|                | Средн.                      | SD   | RSD (%) | Средн.  | SD   | RSD (%) |
| 15             | 4                           | 0,08 | 2,04    | 4   | 0,07 | 1,71    |
| 30             | 4                           | 0,03 | 0,65    | 4   | 0,02 | 0,47    |
| 55             | 4                           | 0,18 | 4,13    | 4   | 0,06 | 1,35    |
| 65             | 96                          | 1,20 | 1,25    | 95  | 1,06 | 1,11    |
| 70             | 97                          | 1,16 | 1,19    | 96  | 0,79 | 0,82    |
| 75             | 99                          | 0,69 | 0,70    | 97  | 0,23 | 0,24    |
| 90             | 98                          | 0,81 | 0,83    | 98  | 0,29 | 0,30    |
| 105            | 98                          | 0,31 | 0,31    | 98  | 0,36 | 0,37    |
| 120            | 98                          | 0,96 | 0,98    | 98  | 0,32 | 0,33    |

Средн.=среднее; SD=стандартное отклонение; RSD=относительное стандартное отклонение

среда концепции 2, поскольку значение ее logP составляет 5,34, а количество лецитина

имеет большое влияние на растворимость липофильного лекарственного средства. Эксперимент состоял из первой (желудочной) фазы с использованием 300 мл SGF с pH 1,3, а затем второй (кишечной) фазы с использованием 900 мл кишечной среды натошак с pH 6,5 FaSSIF и новой упрощенной биорелевантной среды концепции 2 натошак. Таблетки перемешивали при 75 об/мин с использованием лопастного аппарата USP типа II в течение 15 минут, а затем 120 минут в имитационной кишечной среде в состоянии натошак. Результаты этого примера также показывают сходство новой упрощенной биорелевантной среды концепции 2 со средой FaSSIF.

Таблица 4: Усредненные результаты растворения таблеток канаглифлозина 300 мг с помощью лопастного аппарата при 75 об/мин с использованием двухфазной среды из SGF, 300 мл, pH 1,3, за которой следует кишечная среда натошак, 900 мл, pH 6,5, при 37°C (N=3)

| Время<br>(мин.) | Растворенное количество (%) |      |         |   |      |         |
|-----------------|-----------------------------|------|---------|---|------|---------|
|                 | FaSSIF                      |      |         | Новая упрощенная биорелевантная среда концепция 2 натошак |      |         |
|                 | Средн.                      | SD   | RSD (%) | Средн.  | SD   | RSD (%) |
| 5               | 4                           | 0,03 | 0,83    | 4   | 0,06 | 1,42    |
| 10              | 4                           | 0,01 | 0,22    | 4   | 0,01 | 0,23    |
| 14              | 4                           | 0,00 | 0,11    | 4   | 0,18 | 4,35    |
| 20              | 59                          | 0,17 | 0,28    | 67  | 2,21 | 3,29    |
| 25              | 75                          | 0,09 | 0,12    | 79  | 0,58 | 0,73    |
| 30              | 83                          | 0,40 | 0,48    | 86  | 0,38 | 0,45    |
| 45              | 91                          | 0,68 | 0,75    | 94  | 0,52 | 0,56    |
| 60              | 92                          | 0,71 | 0,77    | 96  | 0,48 | 0,50    |
| 75              | 93                          | 1,16 | 1,25    | 97  | 0,67 | 0,69    |
| 105             | 94                          | 0,79 | 0,84    | 97  | 0,87 | 0,90    |
| 135             | 93                          | 0,13 | 0,14    | 97  | 0,50 | 0,52    |

Средн.=среднее; SD=стандартное отклонение; RSD=относительное стандартное отклонение

Пример 3. Ибрутиниб - это щелочной препарат, характеризующийся высокой растворимостью в кислой желудочной среде. Из-за его низкой растворимости при более высоком pH он потенциально может выпадать в осадок в кишечном соке. Целью этого примера было сравнить растворение *in vitro* пероральных таблеток с немедленным высвобождением ибрутиниба (560 мг) в эксперименте с двухфазным растворением, состоящем из первой желудочной фазы из 300 мл SGF с pH 1,3; а затем в условиях

кишечника в состоянии натошак из 900 мл FaSSIF или новой упрощенной биорелевантной среды концепции 1 натошак с pH 6,5. Таблетки перемешивали в течение 15 минут, используя лопастной аппарат USP типа II, 75 об/мин, затем 120 минут в среде, имитирующей кишечную среду в состоянии натошак. Осаждение, наблюдаемое в профиле растворения, полученном в новой упрощенной биорелевантной среде концепции 1 натошак, совпадает с наблюдаемым в FaSSIF. Ибрутиниб имеет значение  $\log P$  3,94, что делает его менее липофильным, поэтому для сравнения эффективности с классическим FaSSIF была использована новая упрощенная биорелевантная среда концепции 1 натошак. Профиль растворения таблеток ибрутиниба в новой упрощенной биорелевантной среде концепции 1 натошак совпадает с классической средой FaSSIF.

Таблица 5: Усредненные результаты растворения таблеток ибрутиниба 560 мг с помощью лопастного аппарата при 75 об/мин с использованием двухфазной среды из SGF, 300 мл, pH 1,3, за которой следует кишечная среда натошак, 900 мл, pH 6,5 при 37°C (N=3)

| Время<br>(мин.) | Растворенное количество (%) |      |         |   |      |         |
|-----------------|-----------------------------|------|---------|---|------|---------|
|                 | FaSSIF                      |      |         | Новая упрощенная<br>биорелевантная среда<br>концепция 1 натошак |      |         |
|                 | Средн.                      | SD   | RSD (%) | Средн.  | SD   | RSD (%) |
| 5               | 15                          | 1,13 | 7,72    | 31  | 0,52 | 1,66    |
| 10              | 45                          | 2,38 | 5,29    | 46  | 0,63 | 1,36    |
| 14              | 54                          | 1,45 | 2,71    | 50  | 0,32 | 0,64    |
| 20              | 17                          | 0,25 | 1,48    | 14  | 1,12 | 7,75    |
| 25              | 17                          | 0,30 | 1,74    | 13  | 0,27 | 2,10    |
| 30              | 18                          | 0,21 | 1,17    | 13  | 0,66 | 5,16    |
| 45              | 17                          | 0,48 | 2,78    | 9   | 1,72 | 19,48   |
| 60              | 15                          | 0,49 | 3,16    | 6   | 0,46 | 7,61    |
| 75              | 12                          | 0,40 | 3,28    | 5   | 0,18 | 3,25    |
| 105             | 8                           | 0,15 | 2,04    | 5   | 0,09 | 1,84    |
| 135             | 7                           | 0,04 | 0,53    | 5   | 0,01 | 0,17    |

Средн.=среднее; SD=стандартное отклонение; RSD=относительное стандартное отклонение

Пример 4. Итраконазол - это плохо растворимый препарат с  $\log P$  6,5, который характеризуется низкой растворимостью в кишечном тракте. Чтобы смоделировать характеристики солюбилизации итраконазола (высоколипофильного лекарственного средства), растворение проводили в новой упрощенной биорелевантной среде,

моделирующей условия натощак после еды концепции 2. Пример служит для описания низкой растворимости итраконазола в классических биорелевантных средах, которая также наблюдается в новых упрощенных биорелевантных средах. Целью этого примера было сравнить растворение *in vitro* пероральных капсул итраконазола (100 мг) в эксперименте с однофазным растворением, состоящем из 500 мл имитированной кишечной среды FaSSIF натощак и новой упрощенной биорелевантной среды концепции 2 натощак при pH 6,5 и 500 мл имитированной кишечной среды для состояния после еды, FeSSIF и новой упрощенной биорелевантной среды концепции 2 после еды при pH 5. Вкратце, капсулы перемешивали при 75 об/мин с использованием лопастного аппарата USP типа II в сосуде для растворения в течение 120 минут для состояния натощак и 180 минут для состояния после еды. Пример показывает, что новая упрощенная биорелевантная среда концепции 2 не завывает профиль растворения плохо растворимого

Таблица 7: Усредненные результаты растворения итраконазола в капсулах по 100 мг с помощью лопастного аппарата при 75 об/мин, в 500 мл кишечной среды для состояния после еды, pH 5, при 37°C (N=3)

| Время<br>(мин.) | Растворенное количество (%) |      |         |   |      |         |
|-----------------|-----------------------------|------|---------|---|------|---------|
|                 | FeSSIF                      |      |         | Новая упрощенная<br>биорелевантная среда<br>концепции 2 после еды |      |         |
|                 | Средн.                      | SD   | RSD (%) | Средн.  | SD   | RSD (%) |
| 5               | 0                           | 0,00 | 9,18    | 0   | 0,07 | 10,62   |
| 10              | 0                           | 0,00 | 2,15    | 0   | 0,01 | 3,19    |
| 15              | 0                           | 0,01 | 6,00    | 0   | 0,01 | 20,68   |
| 20              | 0                           | 0,01 | 3,64    | 0   | 0,02 | 17,31   |
| 30              | 1                           | 0,09 | 11,61   | 0   | 0,03 | 18,54   |
| 45              | 1                           | 0,03 | 3,12    | 0   | 0,06 | 56,52   |
| 60              | 1                           | 0,05 | 4,53    | 0   | 0,13 | 75,28   |
| 90              | 1                           | 0,06 | 5,00    | 1   | 0,04 | 76,71   |
| 120             | 1                           | 0,11 | 10,82   | 1   | 0,07 | 88,13   |
| 180             | 1                           | 0,03 | 3,38    | 0   | 0,01 | 12,62   |

Средн.=среднее; SD=стандартное отклонение; RSD=относительное стандартное отклонение

лекарственного средства и ведет себя аналогично классической биорелевантной среде.

Приведенные выше примеры показывают, что новые упрощенные биорелевантные среды для состояния натощак и новые упрощенные биорелевантные среды для состояния после еды имитируют профили растворения выбранных плохо растворимых

лекарственных средств в существующей биорелевантной среде для состояний натошак и после еды.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Биорелевантная среда растворения, напоминающая желудочно-кишечный сок, содержащая: мицеллярный раствор, содержащий синтетическую соль фосфонохолевой кислоты, полисорбат, буферные компоненты и осмотический агент, где мольное соотношение синтетической соли фосфонохолевой кислоты и полисорбата составляет от примерно 1:1 до -20:1.

2. Среда по п. 1, имитирующая кишечный сок в состоянии натощак, путем регулирования ее рН в пределах от примерно 6 до 7.

3. Среда по п. 2, имеющая осмоляльность менее 300 мОсмоль/кг.

4. Среда по п. 1, имитирующая состояние кишечной жидкости состоянии после еды путем регулирования ее рН до примерно 4-6.

5. Среда по п. 4, имеющая осмоляльность менее 700 мОсмоль/кг.

6. Среда по любому из пп. 1-4, отличающаяся тем, что полисорбат выбран из группы полисорбатов, состоящей из полисорбата 20 (полиоксиэтилен (20) сорбитана монолаурата), полисорбата 80 (полиоксиэтилен (20) сорбитана моноолеата), полисорбата 40 (полиоксиэтилен (20) сорбитана монопальмитата) полисорбата 60 (полиоксиэтилен (20) сорбитана моностеарата), полисорбата 65 (полиоксиэтилен (20) сорбитана тристеарата) и полисорбата 85 (полиоксиэтилен (20) сорбитана триолеата).

7. Среда по любому из пп. 1-6, содержащая хлорид натрия в качестве осмотического средства.

8. Среда по любому из пп. 1-7, содержащая дигидрофосфат натрия в качестве буферного реагента и содержащая хлорид натрия в качестве осмотического средства.

9. Среда по любому из пп. 1-8, отличающаяся тем, что соль фосфонохолевой кислоты выбрана из динатриевых солей 23-фосфонохолевой кислоты или 24-фосфонохолевой кислоты.

10. Среда согласно пп.1, 2 или 3, подобная кишечному соку человека для условий натощак, содержащая следующие ингредиенты

g) динатрий 24-фосфонохолевая кислота 3 мМ

h) полисорбат 80 0,75 мМ

i) дигидрофосфат натрия 3,95 г

j) натрия хлорид 6,18 г

k) гидроксид натрия 0,35 г

l) вода до 1 л.

11. Среда согласно пп.1, 2 или 3, подобная кишечному соку человека для условий натощак, содержащая следующие ингредиенты

g) динатрий 24-фосфонохолевая кислота 3 мМ

h) полисорбат 80 1,5 мМ

i) дигидрофосфат натрия 3,95 г

j) натрия хлорид 6,18 г

k) гидроксид натрия 0,35 г

l) вода до 1 л.

12. Среда согласно пп.1, 4 или 5, подобная кишечному соку человека для условий после еды, содержащая следующие ингредиенты

g) динатрий 24-фосфонохолевая кислота 15 мМ

h) полисорбат 80 3,75 мМ

i) уксусная кислота 8,65 г

j) натрия хлорид 11,8 г

k) гидроксид натрия 4,04 г

l) вода до 1 л.

13. Среда согласно пп.1, 4 или 5, подобная кишечному соку человека для условий после еды, содержащая следующие ингредиенты

g) динатрий 24-фосфонохолевая кислота 15 мМ

h) полисорбат 80 7,5 мМ

i) уксусная кислота 8,65 г

j) натрия хлорид 11,8 г

k) гидроксид натрия 4,04 г

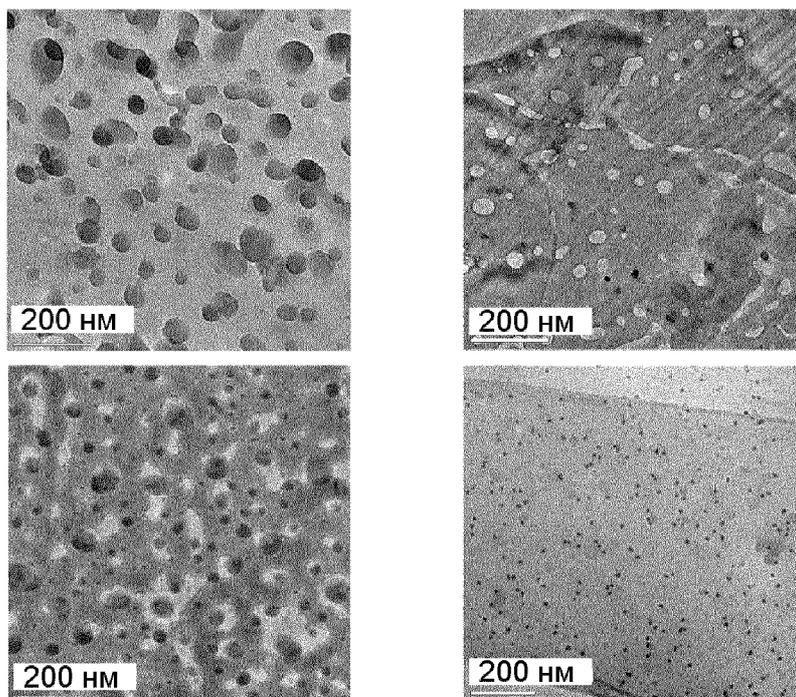
l) вода до 1 л.

14. Способ приготовления среды по любому из пп.1-13, включающий взвешивание и растворение каждого ингредиента в воде отдельно от других.

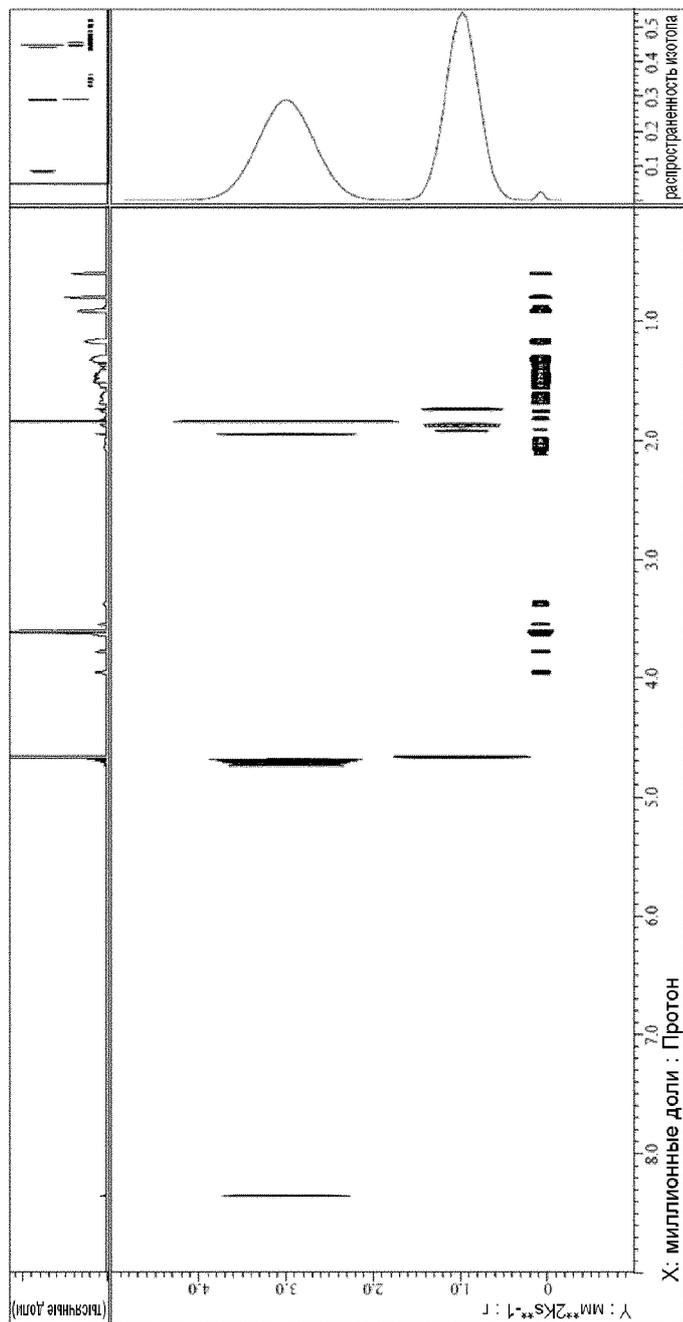
15. Применение среды по любому из пп.1-13 для тестирования растворимости, тестирования растворения, оценки высвобождения лекарственного средства, IVIVC, перенасыщения лекарственного средства, выпадения в осадок лекарственного средства и тестирования стабильности лекарственного средства.

16. Тест на растворение, включающий внесение лекарственной формы в среду растворения, как определено в любом из пп.1-13, и измерение через регулярные интервалы времени концентрации интересующего аналита или аналитов.

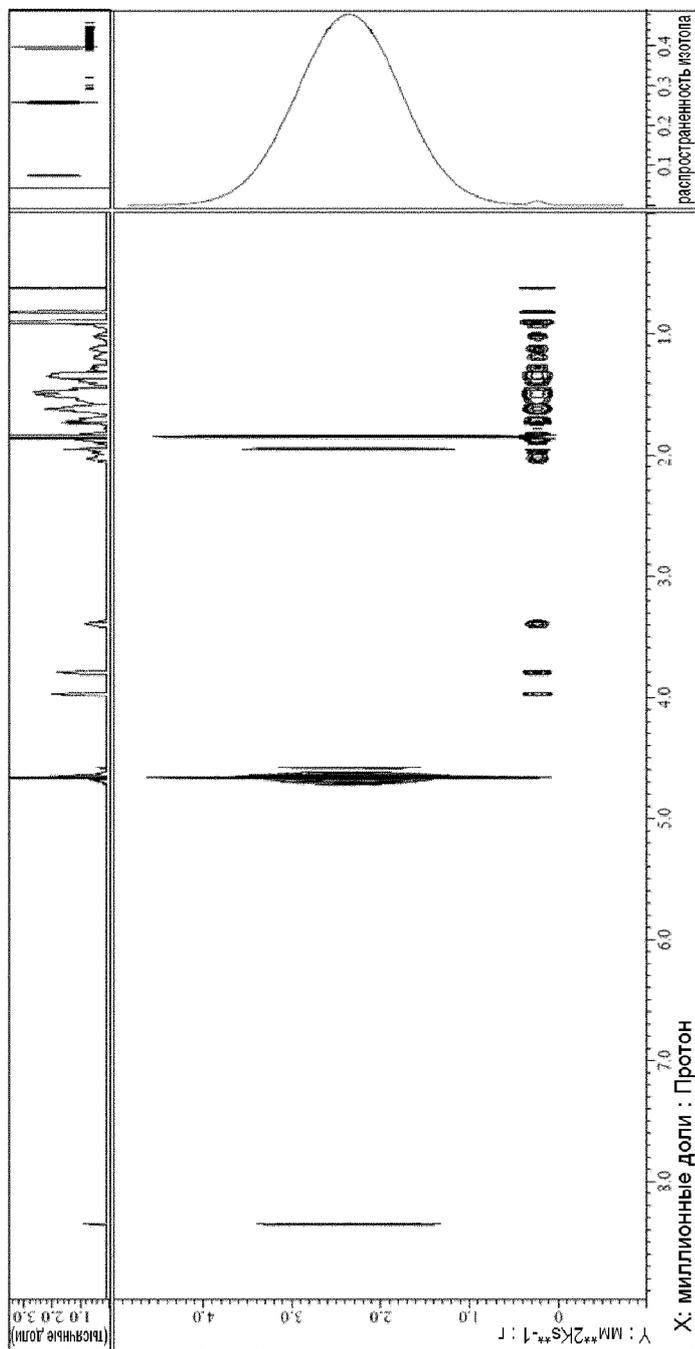
По доверенности



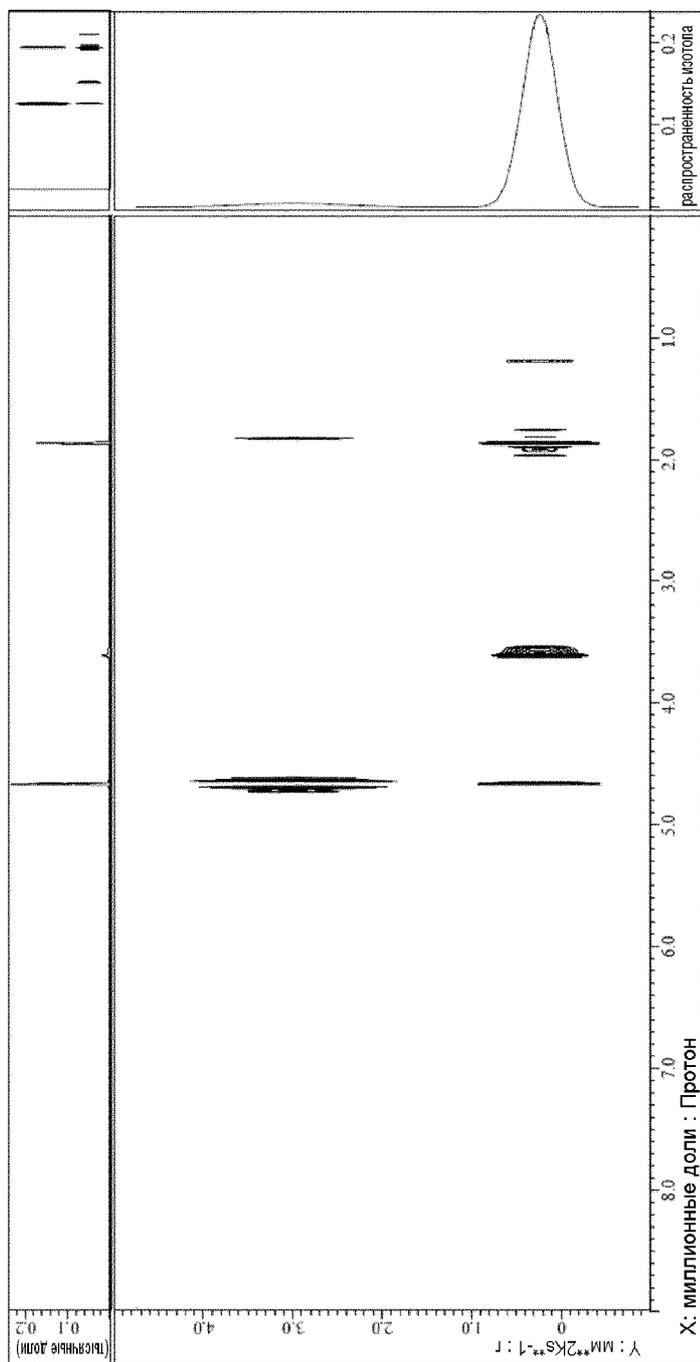
ФИГ. 1



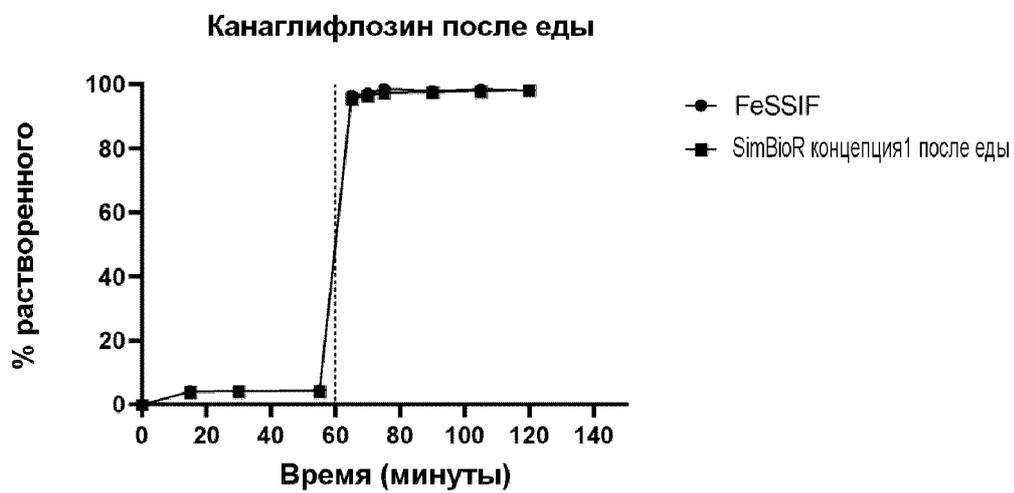
ФИГ. 2



ФИГ. 3



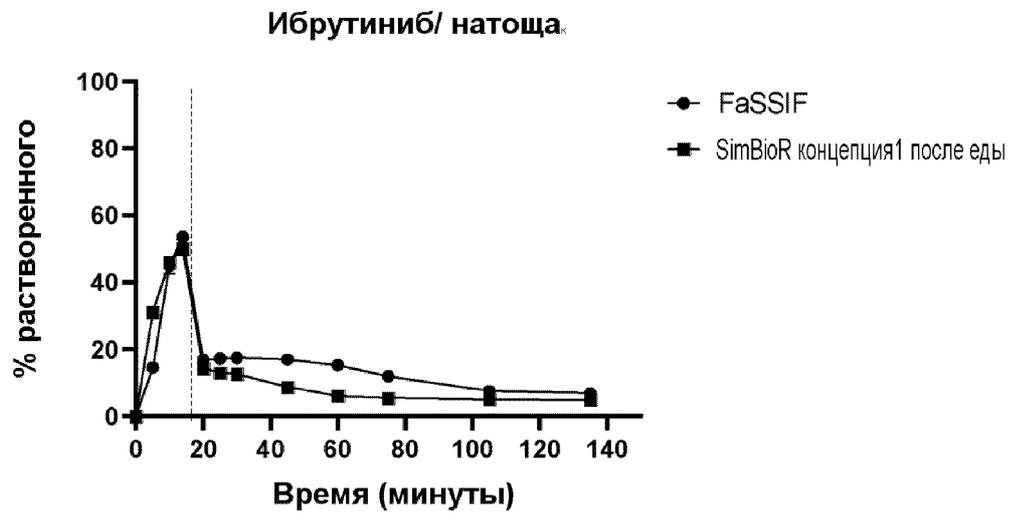
ФИГ. 4



ФИГ. 5



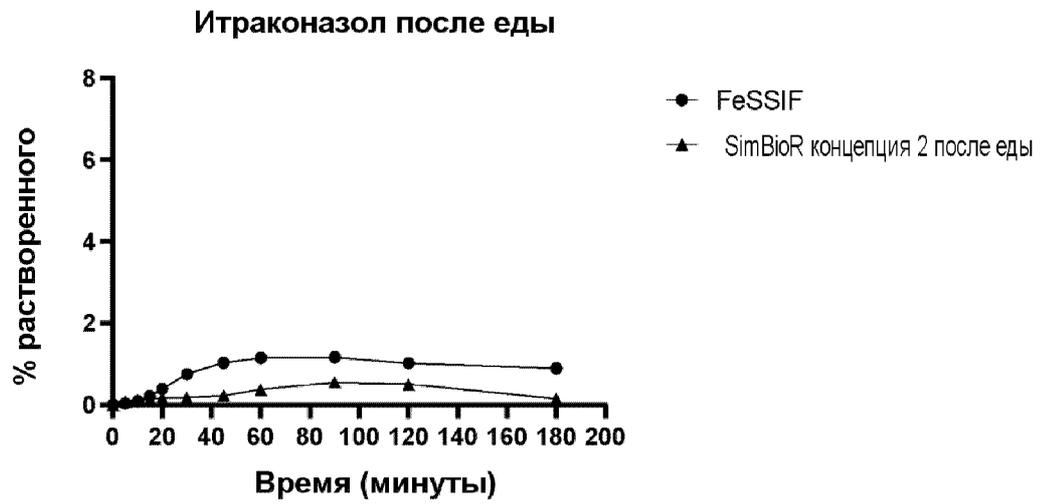
ФИГ. 6



ФИГ. 7



ФИГ. 8



ФИГ. 9