

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-1-3-7
© Коллектив авторов, 2018

С. Ю. Сереброва^{1, 2}, А. Б. Прокофьев^{1, 2}, Л. М. Красных¹, Г. Ф. Василенко¹,
Е. А. Смолярчук², Е. Н. Карева^{2, 3}, В. В. Смирнов^{1, 2}, М. В. Журавлева^{1, 2},
Н. Н. Еременко^{1, 2}, Н. Б. Лазарева², А. К. Стародубцев², Д. О. Кургузова²,
А. О. Барков², А. Г. Абросимов², Т. И. Кониев², А. С. Сивков²,
И. И. Темирбулатов²

ДИСКУССИОННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОСПРОИЗВЕДЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ЭЗОМЕПРАЗОЛА

¹ ФГБУ "Научный центр экспертизы средств медицинского применения" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Россия, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2; e-mail: svetasurebrova@mail.ru

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

³ ФГБОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, дом 1.

Выполнен тест сравнительной кинетики растворения, моделирующий воздействие патологического дуоденогастрального рефлюкса и лекарственной кислотосупрессии на устойчивость препаратов эзомепразола 3 разных производителей. После экспозиции в растворах с рН (1,2 ± 0,05) или (4,0 ± 0,05) препараты перемещались в среду с рН (7,0 ± 0,05), откуда забирались аликвоты через 0, 4, 10, 15, 20, 30, 45, 60 мин для определения в них концентраций эзомепразола. Время воздействия патологического дуоденогастрального рефлюксата на лекарственную форму эзомепразола равно 4 мин. Показано, что в заданных тестом условиях ВЛС1 и ВЛС2 не являются эквивалентными референтному препарату (РП), лекарственная форма РП, вероятно, подвержена влиянию патологического дуоденогастрального рефлюкса в желудке, ВЛС2 полностью разрушается в умеренно кислой среде с рН 4,0, что свидетельствует о возможном негативном воздействии его основного антисекреторного фармакодинамического эффекта на стабильность в желудке собственной лекарственной формы и действующего вещества.

Ключевые слова: эзомепразол; омепразол; взаимозаменяемость; фармацевтическая эквивалентность; тест сравнительной кинетики растворения; антисекреторная терапия; дуоденогастральный рефлюкс.

В настоящее время обостряется проблема обеспечения и контроля качества воспроизведенных лекарственных препаратов, которые, с одной стороны, должны соответствовать по эффективности и безопасности референтным (лучше оригинальным), с другой стороны, это соответствие невозможно точно оценить только на основании подтвержденных фармацевтической и биологической эквивалентности без проведения исследования терапевтической эквивалентности [1].

Ингибиторы протонной помпы (ИПП) — кислото-неустойчивые препараты, применяемые при различных заболеваниях, ассоциированных с высокой интенсивностью продукции HCl в желудке: язвенная болезнь, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь и др. [2]. Биодоступность ИПП в значительной степени зависит от качества полимерных покрытий, используемых в производстве кишечнорастворимых лекарственных форм, — таблеток или пеллет. К сожалению, ме-

тоды анализа этого качества нуждаются в совершенствовании, так как:

1. Оценка растворимости кишечнорастворимых полимеров в средах с разными значениями рН, типичными для желудка и тонкой кишки не только здоровых лиц, но и пациентов, принимающих блокаторы кислотопроизводства (1,2 < рН < 5,0), проводится и представляется в публикациях лишь некоторыми производителями, в то время как современные фармакопейные требования не предусматривают такого рода исследований для готовых лекарственных форм ИПП [3, 4];

2. В исследованиях биоэквивалентности, проводимых с участием здоровых добровольцев, не воспроизводятся патофизиологические условия желудка больного с кислотозависимым заболеванием, когда на кишечнорастворимую лекарственную форму ИПП действуют высокоамплитудные колебания рН, связанные с патологическим дуоденогастральным рефлюк-

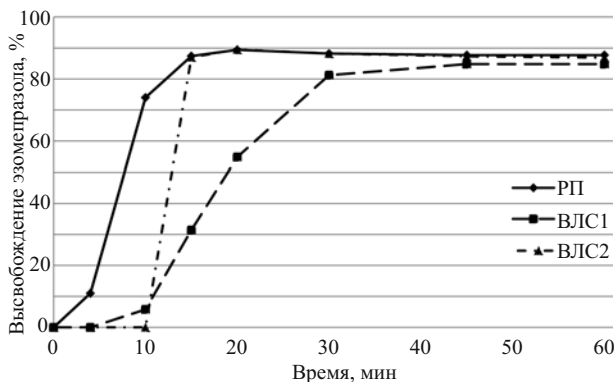


Рис. 1. Усредненные профили растворения ЛП, содержащих эзомепразол, в среде раствора с $pH = 7,0 \pm 0,05$ после 2 ч выдерживания в кислой среде с $pH = 1,2 \pm 0,05$.

сом и последующим восстановлением гиперацидности, или когда при курсовом применении ИПП его очередная твердая лекарственная форма вероятно оказывается в среде желудка с $pH \geq 4$, а не с $pH = 1,2$ (в тесте сравнительной кинетики растворения ИПП используются среды растворения лишь с $pH = 1,2$) [5, 6].

Эзомепразол — первый моноизомерный ИПП, содержащий только S-изомер омепразола, в меньшей степени, чем D-изомер, образующий неактивные метаболиты. Удаление из рацематической смеси правоповерхающего изомера закономерно привело к увеличению биодоступности препарата. Эзомепразол обладает преимуществом перед омепразолом по интенсивности контроля внутрижелудочной кислотопродукции и срокам заживления дефектов слизистых оболочек пищевода и желудка [7, 8].

Целью настоящего исследования было изучение и сравнение кинетики высвобождения из кишечнорастворимых оболочек препаратов эзомепразола разных производителей с помощью теста сравнительной кинетики растворения, моделирующего воздействие на твердые дозированные лекарственные формы, покрытые кишечнорастворимыми оболочками, патологического дуоденогастрального рефлюкса и лекарственной кислотосупрессии.

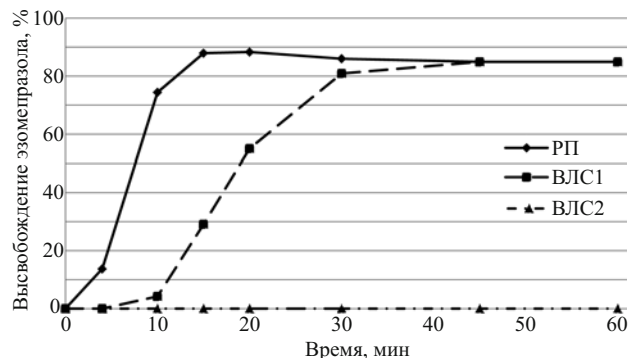


Рис. 2. Усредненные профили растворения ЛП, содержащих эзомепразол, в среде раствора с $pH = 7,0 \pm 0,05$ после 2 ч выдерживания в кислой среде с $pH = 4,0 \pm 0,05$.

Экспериментальная часть

С помощью теста сравнительной кинетики растворения (ТСКР) изучали кинетику растворения оригинального (РП) и 2 воспроизведенных (ВЛС1 и ВЛС2) препаратов эзомепразола разных производителей, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, или капсулы кишечнорастворимые, в дозе 20 мг. Состав действующих и вспомогательных веществ исследованных препаратов представлен в табл. 1.

Обоснование моделей патологического дуоденогастрального рефлюкса и лекарственной кислотосупрессии в тесте сравнительной кинетики растворения препаратов эзомепразола

Дуоденогастральный рефлюкс — “зазубренное” ощелачивание (быстрое повышение pH) выше 4,0 в антральном отделе желудка, не связанное с приемом пищи или поступлением слюны. О патологическом дуоденогастральном рефлюксе можно судить по доле времени pH -метрии ($\geq 12,1\%$), в течение которого высокоамплитудные колебания pH в теле желудка, связанные с рефлюксом, приводят к достижению $pH \geq 7,0$ [9, 10]. Следовательно, при наличии патологического дуоденогастрального рефлюкса в течение 12,1 % времени нахождения в желудке инородного предмета (датчик pH -метра или твердая дозированная

Таблица 1
Состав действующих и вспомогательных веществ в твердых дозированных лекарственных формах исследованных препаратов эзомепразола

Соединение	РП	ВЛС1	ВЛС2
Активное вещество	Эзомепразол 20 мг в виде эзомепразола магния тригидрата	Эзомепразол 20 мг в виде эзомепразола магния дигидрата	Эзомепразол 20 мг в виде магния дигидрата
Вспомогательные вещества	Сахароза, гипролоза, гипромеллоза, полиэтиленгликоль, полисорбат 80, глицерил моностеарат, магния стеарат, парафин, кросповидон, целлюлоза микрокристаллическая, натрия стеарилфумарат, метакриловой и этакриловой кислот сополимер (1:1), триэтилцитрат, титана диоксид, железа оксид красный, железа оксид желтый, тальк	Сахароза, мальтодекстрин, желатин, полиэтиленгликоль, полисорбат 80, повидон К30, магния гидроксикарбонат, натрия лаурилсульфат, спирт поливиниловый, метакриловой и этакриловой кислот сополимер (1:1), титана диоксид, железа оксид красный, тальк	Гипролоза, гипромеллоза, крахмал кукурузный прежелатинизированный, полиэтиленгликоль, целлюлоза микрокристаллическая, натрия стеарилфумарат, натрия гидрокарбонат, натрия лаурилсульфат, метакриловой и этакриловой кислот сополимер (1:1), триэтилцитрат, маннитол, кремния диоксид коллоидный, титана диоксид, железа оксид желтый, индигокармин, бриллиантовый голубой, тальк

лекарственная форма) на него будет действовать среда с $pH \geq 7,0$.

Расчет времени воздействия патологического дуоденогастрального рефлюкса на твердые дозированные лекарственные формы эзомепразола проводили по следующей формуле:

$$T_p = (T_k \cdot 0,121) + t, \quad (1)$$

где T_p — расчетная временная точка — время воздействия патологического дуоденогастрального рефлюкса на твердую дозированную лекарственную форму; T_k — время появления эзомепразола в крови (30 мин); 0,121 — доля времени, в течение которого у больных патологическим дуоденогастральным рефлюксом при проведении внутрижелудочной pH-метрии регистрируются значения $pH \geq 7,0$; t — это 1 мин на равномерное распределение в растворе выделяющегося из лекарственной формы лекарственного препарата. Для эзомепразола $T_p = 4$ мин.

Параметры лекарственной кислотосупрессии, оптимальной для заживления дефектов слизистых оболочек при кислотозависимых заболеваниях, описаны в работах Белла и подтверждаются результатами исследований других авторов. При гастроэзофагеальной рефлюксной болезни — это продолжительность подъема в желудке и пищеводе $pH \geq 4$. ИПП при курсовом применении обеспечивают длительное ощелачивание внутрижелудочного содержимого с подъемом $pH \geq 4$, приближающееся по времени к 24 ч [5, 6]. Таким образом, $pH = 4,0$ — неучитываемое в стандартном ТСКР нижнее пороговое значение pH, характеризующее оптимальные для заживления слизистых оболочек условия, обеспечиваемое приемом ИПП, но показывающее умеренно кислое состояние среды, вероятно, неприемлемое для стабильности самих кислотонестойчивых ИПП в случае выхода действующих веществ из кишечнорастворимых оболочек с нарушением свойств, декларируемых производителями полимеров. Мы моделировали влияние лекарственной кислотосупрессии (курсового применения ИПП) в ТСКР эзомепразола выдерживанием сравниваемых препаратов в среде с $pH = 4,0 \pm 0,05$ с забором аликвот и определением в них концентрации эзомепразола.

Изучение сравнительной кинетики растворения исследуемых лекарственных препаратов в условиях *in vitro* выполняли на приборе ERVEKADT 600 при 100 об/мин, при температуре среды растворения ($37 \pm 0,5$) °С. Методом ВЭЖХ по модифицированной методике [11] определяли концентрацию эзомепразола в аликвотах, отбираемых через 4, 10, 15, 20, 30, 45,

60 мин в растворе с $pH (7,0 \pm 0,05)$ после двухчасовой экспозиции при $pH (1,2 \pm 0,05)$ или $(4,0 \pm 0,05)$.

Тест “Растворение” исследуемых препаратов в среде растворения с $pH (7,0 \pm 0,05)$ после 2 ч выдерживания в $pH (1,2 \pm 0,05)$

В каждый из 6 сосудов для растворения с 500 мл хлористоводородной кислоты с $pH (1,2 \pm 0,05)$ помещали по 1 таблетке (капсуле) исследуемого лекарственного средства на 2 ч. Через 2 ч отбирали аликвоту и анализировали на ВЭЖХ. Далее из кислой среды содержимое капсул или таблеток переносили в фосфатно-буферный раствор объемом 900 мл с $pH (7,0 \pm 0,05)$ и через 4, 10, 15, 20, 30, 45 и 60 мин проводили последовательный отбор проб с помощью дозатора переменного объема “Ленпипет Колор”, восполняя отобранный объем среды. Полученные пробы охлаждали при комнатной температуре, затем фильтровали через бумажные фильтры с синей лентой, отбрасывая первые порции фильтрата. Во все отфильтрованные пробы прибавляли 0,25 М раствор NaOH (из расчета 400 мкл на 2 мл пробы) и определяли количество действующего вещества, перешедшего в раствор, методом ВЭЖХ.

Тест “Растворение” исследуемых препаратов в среде растворения с $pH (7,0 \pm 0,05)$ после двухчасового выдерживания в $pH (4,0 \pm 0,05)$

При проведении исследования кинетики растворения таблетки (капсулы) помещали в сосуд с 500 мл фосфатного буфера с $pH (4,0 \pm 0,05)$ на 2 ч, затем отбирали аликвоту и анализировали на ВЭЖХ. После этого содержимое капсул или таблеток переносили в фосфатный буфер с $pH (7,0 \pm 0,05)$ и через 4, 10, 15, 20, 30, 45 и 60 мин проводили последовательный отбор проб с помощью дозатора переменного объема “Ленпипет Колор”, восполняя отобранный объем среды. Полученные пробы охлаждали при комнатной температуре, затем фильтровали через бумажные фильтры с синей лентой, отбрасывая первые порции фильтрата. Во все отфильтрованные пробы прибавляли 0,25 М раствор NaOH (из расчета 400 мкл на 2 мл раствора стандарта) и определяли количество действующего вещества, перешедшего в раствор, методом ВЭЖХ.

Статистическую обработку результатов эксперимента осуществляли с использованием пакета Microsoft Office Excel 2007 расчетом среднего значения количества перешедшего в раствор эзомепразола, стандартного отклонения (SD) и относительного стандартного отклонения (RSD , %) [12].

Таблица 3
Значение величин стандартного отклонения (%) после 2 ч экспозиции при $pH (1,2 \pm 0,5)$

ЛП	RSD, %						
	4 мин	10 мин	15 мин	20 мин	30 мин	45 мин	60 мин
ЛП	17,2	9,4	4,4	3,3	3,1	2,1	2,1
ВЛС1	-	7,8	12,2	5,5	5,9	1,1	1,1
ВЛС2	-	-	1,2	0,6	2,1	1,3	1,8

Таблица 2
Значения факторов сходимости в среде растворения с $pH (7,0 \pm 0,05)$ после экспозиции при $pH (1,2 \pm 0,05)$

	РП	Фактор сходимости (f_s)	Норма
1.	ВЛС1	16,3	50 – 100
2.	ВЛС2	24,0	

Усредненные профили кинетики растворения лекарственных препаратов (ЛП), содержащих эзомепразол, в среде растворения с рН (7,0 ± 0,05) после 2 ч выдерживания при рН (1,2 ± 0,05) представлены на рис. 1.

При изучении кинетики высвобождения эзомепразола из исследуемых ЛП в среде растворения с рН (7,0 ± 0,05), после предварительной экспозиции при рН (1,2 ± 0,05) установлено, что скорость и количество высвободившегося в раствор действующего вещества из изучаемых ЛП различны (рис. 1). Имеются существенные различия в динамике высвобождения эзомепразола из препаратов ВЛС1 и ВЛС2, по сравнению с препаратом РП. Через 4 мин наблюдалось высвобождение эзомепразола в количестве 11 % только из РП.

Для подтверждения сходства профилей растворимости использовали фактор сходимости (f_2), который рассчитывали по формуле [12]:

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{i=1}^{i=n} (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} \cdot 100, \quad (2)$$

где n — число временных точек; R_t — среднее значение высвобождения активного ингредиента из препарата сравнения на момент времени t , %; T_t — среднее значение высвобождения активного ингредиента из исследуемого препарата на момент времени t , %. Значения рассчитанного фактора сходимости (f_2) для этой серии эксперимента представлены в табл. 2.

Препараты в условиях данного эксперимента не являются эквивалентными, т.к. фактор сходимости составил меньше 50. Для данной серии исследований были рассчитаны величины относительного стандартного отклонения (RSD , %), представленные в табл. 3.

Согласно требованиям руководства по экспертизе лекарственных средств [12], величина относительного стандартного отклонения (RSD , %) не превышала 10 % для всех временных точек, за исключением первой временной точки (значение RSD не более 20 %).

Усредненные профили кинетики растворения ЛП в среде растворения с рН (7,0 ± 0,05) после 2 ч выдерживания при рН (4,0 ± 0,05) представлены на рис. 2. Как видно из представленных данных, скорость и степень высвобождения в среду растворения эзомепразола с рН (7,0 ± 0,05) после экспозиции при рН (4,0 ± 0,05) различны. Значения рассчитанного фактора сходимости (f_2), для этой серии эксперимента представлены в табл. 4.

Таблица 4
Значения факторов сходимости в среде растворения с рН = (7,0 ± 0,05) после экспозиции при рН = (4,0 ± 0,05)

	РП	Фактор сходимости (f_2)	Норма
1.	ВЛС1	15,3	50 – 100
2.	ВЛС2	-	

Существенные различия в кинетике растворения наблюдалось у препарата РП и ВЛС1, фактор сходимости был значительно меньше нормы ($f_2 = 15,3$). У препарата ВЛС2 эзомепразол в среде растворения с рН (7,0 ± 0,05) после экспозиции при рН (4,0 ± 0,05) не определялся. По-видимому, эзомепразол высвобождается уже при экспозиции в растворе со среднекислым значением рН (4,0 ± 0,05) и там же разрушается. Таким образом, если эзомепразол выделяется в раствор с рН (4,0 ± 0,05), он будет высвобождаться из кишечнорастворимой оболочки уже в желудке больных, принимающих антисекреторные препараты, в том числе сам эзомепразол. Так как эзомепразол кислотонеустойчив, а рН 4,0 — кислая среда, выделившись из лекарственной формы, препарат будет разрушаться в желудке. Препарат ВЛС2 неустойчив к действию желудочного содержимого при лекарственной кислотосупрессии.

В табл. 5 представлены значения относительного стандартного отклонения (RSD , %).

Проведенный статистический анализ показал, что величина относительного стандартного отклонения (RSD , %) не превышала 10 % для всех временных точек, за исключением первой временной точки, значение которой не превышало 20 %.

Полученные в нашем исследовании данные свидетельствуют о том, что тестируемые ЛП отличаются от препарата сравнения в условиях *in vitro*. Раннее высвобождение в нейтральной среде снижает устойчивость препаратов ИПП к действию патологического дуоденогастрального рефлюкса и следующего за рефлюксом падения рН внутрижелудочного содержимого. Этот факт важен в свете дискуссии о возможных причинах необходимости удвоения суточной дозы эзомепразола (40 мг/сут), по сравнению с омепразолом (20 мг/сут), при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (у оригинального омепразола кишечнорастворимая оболочка устойчива на модели патологического дуоденогастрального рефлюкса ТСКР).

Таким образом, ТСКР 3 препаратов эзомепразола показал, что в заданных тестом условиях ВЛС1 и ВЛС2 не являются эквивалентными РП, лекарственная форма РП вероятно подвержена влиянию патологического дуоденогастрального рефлюкса в желудке, ВЛС2 полностью разрушается в умеренно кислой среде с рН 4,0, что свидетельствует о возможном негативном воздействии его основного антисекреторного фармакодинамического эффекта на стабильность в желудке соб-

Таблица 5
Значение величин стандартного отклонения (%) после 2 ч экспозиции в рН (4,0 ± 0,5)

ЛП	RSD , %						
	4 мин	10 мин	15 мин	20 мин	30 мин	45 мин	60 мин
РП	20,4	4,6	2,4	2,4	2,3	2,5	2,5
ВЛС1	-	18,5	8,2	7,8	2,2	0,6	0,6
ВЛС2	-	-	-	-	-	-	-

ственной лекарственной формы и действующего вещества.

ЛИТЕРАТУРА

1. Б. К. Романов, Н. Д. Бунятян, Ю. В. Олефир и др., *Ведомости НЦЭСМП*, № 2, 3 – 8 (2015).
2. G. Sachs, J. M. Shin, C. W. Howden, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **23**(2), 2 – 8 (2006).
3. S. D. Hussan, R. Santanu, P. Verma, V. Bhandari, *J. Pharmacy*, **2**(6), 5 – 11 (2012).
4. R. N. Tirpude, P. K. Puranik, *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, **2**(3), 184 – 191 (2011).
5. N. J. Bell, R. H. Hunt, *Gut.*, **33**, 118 – 124 (1992).
6. B. B. Gouda A. M. Lydon, A. Badhe, et al., *Eur. J. Anaesthesiol.*, **21**, 260 – 264 (2004).
7. T. Lind, L. Rydberg, A. Kyleback, et al., *Aliment Pharmacol. Ther.*, **14**(7), 861 – 867 (2000).
8. P. J. Kahrilas, G. W. Falk, D. A. Johnson, et al., *Aliment Pharmacol. Ther.*, **14**(10), 1249 – 1258 (2000).
9. В. Н. Сацукевич, Д. В. Сацукевич, *Факторы риска острых осложнений гастродуоденальных язв*, Либерея, Москва (1999).
10. K. H. Fuchs, T. R. DeMeester, R. A. Hinder, et al., *Ann Surg.*, **213**(1), 13 – 20 (1991).
11. U. Satyanarayana, S. Suralkar, K. Ramakrichna, *Int. J. Pharm. Technol.*, **6**(4), 7970 – 7978 (2015).
12. *Руководство по экспертизе лекарственных средств*, Том 1, Гриф и К, Москва (2013).

Поступила 13.04.18

DISPUTABLE ISSUES OF ESOMEPRAZOLE GENERICS QUALITY ASSESSMENT

S. Yu. Serebrova^{1,2}, A. B. Prokof'ev^{1,2}, L. M. Krasnykh¹, G. F. Vasilenko¹, E. A. Smolyarchuk², E. N. Kareva^{2,3}, V. V. Smirnov^{1,2}, M. V. Zhuravleva^{1,2}, N. N. Eremenko^{1,2}, N. B. Lazareva², A. K. Starodubtsev², D. O. Kurguzova², A. O. Barkov², A. G. Abrosimov², T. I. Koniev², A. S. Sivkov², and I. I. Temirbulatov²

¹ Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow 127051 Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991 Russia

³ N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia

Comparative dissolution testing of esomeprazole preparations from three different manufacturers was conducted to enable modeling of the pathologic duodenogastric reflux (PDGR) and pharmacological acid suppression on drug stability. The drugs moved to pH 7.0 ± 0.05 solution after their pH 1.2 ± 0.05 or pH 4.0 ± 0.05 exposure. Esomeprazole concentration was determined in 0, 4, 10, 15, 20, 30, 45, and 60 min after pH 7.0 ± 0.05 exposure. The time of PDGR action on esomeprazole was 4 minutes. There was no equivalence of Generic1 and Generic2 to the reference drug under modeled conditions, which was probably related to PDGR effect in the stomach. The full degradation of Generic2 under pH 4.0 was most likely associated with potential negative effect of esomeprazole pharmacodynamics on drug itself and its active substance.

Keywords: esomeprazole; omeprazole; interchangeability; pharmaceutical equivalence; comparative dissolution kinetics test; antisecretory therapy; duodenogastric reflux.