



Применение *in vitro* исследований для предсказания фармакокинетики таблеток ривароксабана

А. В. Суворова²✉, П. А. Лосенкова^{1, 2}, Ю. В. Медведев^{1, 2}, Е. А. Малашенко^{1, 3},
К. К. Карнакова³, Н. С. Багаева³, А. Ю. Савченко⁴, А. М. Полуянов^{1, 2}, И. Е. Шохин³

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² Общество с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс» (ООО «СК»). 117638, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8., помещ. 1/2

³ Общество с ограниченной ответственностью «Центр фармацевтической аналитики» (ООО «ЦФА»). 117638, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (НИЯУ МИФИ). 115409, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 31

✉ Контактное лицо: Суворова Александра Вадимовна. E-mail: info@scientific-compliance.ru

ORCID: А. В. Суворова – <https://orcid.org/0000-0003-2611-501X>;
П. А. Лосенкова – <https://orcid.org/0009-0005-2391-5267>;
Ю. В. Медведев – <https://orcid.org/0000-0001-6720-4954>;
Е. А. Малашенко – <https://orcid.org/0000-0002-4183-7822>;
К. К. Карнакова – <https://orcid.org/0000-0002-4010-1231>;
Н. С. Багаева – <https://orcid.org/0000-0001-7496-8186>;
А. Ю. Савченко – <https://orcid.org/0000-0003-2734-5036>;
А. М. Полуянов – <https://orcid.org/0000-0002-9960-6699>;
И. Е. Шохин – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>.

Статья поступила: 08.07.2024

Статья принята в печать: 26.08.2024

Статья опубликована: 27.08.2024

Резюме

Введение. Важнейшим этапом фармацевтической разработки воспроизведенного лекарственного средства (ЛС) является клиническое исследование с участием человека – исследование биоэквивалентности. Учитывая важность нахождения препаратов ривароксабана в перечне жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП), в рамках обеспечения технологического суверенитета требуется использование научных робастных и эффективных методов определения качества готовой лекарственной формы.

Цель. Провести исследование таблеток ривароксабана на физиологически релевантном тестере с целью предсказания фармакокинетических профилей.

Материалы и методы. Объектами исследования являются «Ксарелто[®], таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг» (серия ВХJS871, срок годности до 31.10.2024, Bayer AG, Германия), «Ксарелто[®], таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг» (серия ВХKDF32, срок годности до 17.05.2026, Bayer AG, Германия), «Ривароксабан, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг» и «Ривароксабан, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг» отечественного производства, с действующими сроками годности. Во время исследования использовались реактивы, необходимые для приготовления сред растворения и проведения количественного определения. Физиологически релевантный тест проводили на приборе СК ФРТ-6 (ООО «Сайнтифик Комплайнс», Россия). Определение количественного содержания высвободившегося ривароксабана в рамках теста сравнительной кинетики растворения (ТСКР) в среде 0,1%-го раствора натрия лаурилсульфата в фосфатном буферном растворе с pH 6,5 проводилось на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия). Количественное содержание высвободившегося ривароксабана в рамках ТСКР в биорелевантных средах растворения (БРС) и физиологически релевантного теста (ФРТ) оценивали на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Хроматэк-Кристалл ВЭЖХ 2014» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия). Фармакокинетические профили были смоделированы в программе PK-Sim[®] (Systems Biology Software Suite 11.2, Bayer Technology Services GmbH, Германия) на основании данных, полученных в рамках проведения ФРТ. Клиническое исследование таблеток ривароксабана представляло собой проспективное открытое рандомизированное перекрестное в двух этапах сравнительное исследование в двух группах добровольцев с однократным приемом препаратов натошак. В исследовании были рандомизированы 30 здоровых добровольцев мужского пола в возрасте 18–45 лет.

© Суворова А. В., Лосенкова П. А., Медведев Ю. В., Малашенко Е. А., Карнакова К. К., Багаева Н. С., Савченко А. Ю., Полуянов А. М., Шохин И. Е., 2024

© Suvorova A. V., Losenkova P. A., Medvedev Yu. V., Malashenko E. A., Karnakova K. K., Bagaeva N. S., Savchenko A. Yu., Poluyanov A. M., Shohin I. E., 2024

Результаты и обсуждение. Был проведен комплекс испытаний *in vitro*, получены профили, позволяющие оценить динамику и степень высвобождения исследуемых ЛС в различных отделах ЖКТ человека. Осуществлено сравнение последовательной и гибридной схем проведения ФРТ. По результатам проведения ФРТ по разным схемам были предсказаны фармакокинетические профили для пары препаратов и рассчитана ошибка прогнозирования.

Заключение. Проведен комплекс научных испытаний *in vitro* для препаратов «Ксарелто», таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг и 20 мг», «Ривароксабан, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг и 20 мг». В рамках сравнения данных, полученных при проведении клинического исследования и при моделировании наименьшая ошибка прогнозирования была отмечена при выполнении ФРТ по гибридной схеме.

Ключевые слова: ривароксабан, FaSSIF, FaSSGF, БКК

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. М. Полуянов, Е. А. Малашенко, А. Ю. Савченко и И. Е. Шохин придумали и разработали эксперимент. А. В. Суворова и П. А. Лосенкова провели ТСКР и ФРТ. Ю. В. Медведев проводил количественную оценку высвобождения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и руководил работой. К. К. Карнакова и Н. С. Багаева проводили статистическую обработку данных. Все авторы участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

Для цитирования: Суворова А. В., Лосенкова П. А., Медведев Ю. В., Малашенко Е. А., Карнакова К. К., Багаева Н. С., Савченко А. Ю., Полуянов А. М., Шохин И. Е. Применение *in vitro* исследований для предсказания фармакокинетики таблеток ривароксана. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(3):186–198. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-3-1908>

Application of *in vitro* studies to predict the pharmacokinetics of rivaroxaban tablets

Alexandra V. Suvorova^{2✉}, Polina A. Losenkova^{1,2}, Yuri V. Medvedev^{1,2},
Eugenia A. Malashenko^{1,3}, Ksenia K. Karnakova³, Natalia S. Bagaeva³,
Alla Yu. Savchenko⁴, Andrey M. Poluyanov^{1,2}, Igor E. Shohin³

¹ I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

² Limited Liability Company "Scientific Compliance". 1/2, 8, Simferopolsky bulvar, Moscow, 117246, Russia

³ Limited Liability Company "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA"). 8, Simferopolsky bulvar, Moscow, 117246, Russia

⁴ National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute). 31, Kashirskoe highway, Moscow, 115409, Russia

✉ **Corresponding author:** Alexandra V. Suvorova. **E-mail:** info@scientific-compliance.ru

ORCID: Alexandra V. Suvorova – <https://orcid.org/0000-0003-2611-501X>;
Polina A. Losenkova – <https://orcid.org/0009-0005-2391-5267>;
Yuri V. Medvedev – <https://orcid.org/0000-0001-6720-4954>;
Eugenia A. Malashenko – <https://orcid.org/0000-0002-4183-7822>;
Ksenia K. Karnakova – <https://orcid.org/0000-0002-4010-1231>;
Natalia S. Bagaeva – <https://orcid.org/0000-0001-7496-8186>;
Alla Yu. Savchenko – <https://orcid.org/0000-0003-2734-5036>;
Andrey M. Poluyanov – <https://orcid.org/0000-0002-9960-6699>;
Igor E. Shohin – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>.

Received: 08.07.2024

Accepted: 26.08.2024

Published: 27.08.2024

Abstract

Introduction. The most important stage of pharmaceutical development of a generic drug is a clinical trial involving humans – a bioequivalence study. Considering the importance of finding rivaroxaban drugs in the list of vital and essential drugs, as part of ensuring technological sovereignty, the use of scientific robust and effective methods for determining the quality of the dosage form is required.

Aim. Conduct a study of rivaroxaban tablets on a physiologically relevant tester to predict pharmacokinetic profiles.

Materials and methods. The objects of the study are "Xarelto", film-coated tablets, 10 mg" (series BXJS871, with an expiration date of October 31, 2024, Bayer AG, Germany), "Xarelto", film-coated tablets, 20 mg" (series BXKDF32, with an expiration date of May 17, 2026, Bayer AG, Germany) and "Rivaroxaban, film-coated tablets, 10 mg" and "Rivaroxaban, film-coated tablets, 20 mg", domestically produced, with valid expiration dates. During the study, reagents were used to prepare dissolution media and perform quantitative determination. The physiologically relevant test was performed on the SC PRT-6 device (LLC "Scientific Compliance", Russia). The quantitative content of released rivaroxaban within the comparative dissolution kinetics test in a medium of 0.1 in a medium of 0.1 % sodium lauryl sulfate solution in a phosphate buffer solution pH 6.5 was carried out on a SF-2000 spectrophotometer (LLC "OKB Spektr", Russia). The quantitative content of released rivaroxaban within the comparative dissolution kinetics test in biorelevant dissolution media and physiological relevance test was assessed on a high-performance

liquid chromatograph "Chromatec-Crystal HPLC 2014" (CJSC "Chromatec", Russia). Pharmacokinetic profiles were modeled in the PK-Sim® (Systems Biology Software Suite 11.2, Bayer Technology Services GmbH, Germany) program based on the data obtained within the physiologically relevant test. The clinical study of rivaroxaban tablets was a prospective, open-label, randomized, crossover, two-stage comparative study in two groups of volunteers with a single dose of drugs on the fast condition. The study randomized 30 healthy male volunteers aged 18–45 years.

Results and discussion. A complex of *in vitro* tests was conducted, profiles were obtained that allow us to evaluate the dynamics and degree of release of the studied drugs in various parts of the human gastrointestinal tract. A comparison of the sequential and hybrid schemes for conducting the physiological relevance test was carried out. Within the framework of the set of tests, qualitative and quantitative correlation with the clinical trials data was observed only for the hybrid physiological relevance test scheme. Based on the results of physiological relevance test using different schemes, pharmacokinetic profiles for a pair of drugs were predicted and the prediction error was assessed.

Conclusion. A set of scientific *in vitro* tests was conducted for the drugs "Xarelto®, film-coated tablets, 10 mg and 20 mg", "Rivaroxaban, film-coated tablets, 10 mg and 20 mg". Based on the physiological relevance test results, pharmacokinetic profiles for a pair of drugs were predicted with low error and high reliability. As part of the comparison of data obtained during clinical trial and modeling, the smallest prediction error was noted when performing physiological relevance test using a hybrid scheme.

Keywords: rivaroxaban, FaSSIF, FaSSGF, BCS

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Andrey M. Poluyanov, Eugenia A. Malashenko, Alla Yu. Savchenko and Igor E. Shohin conceived and developed the experiment. Alexandra V. Suvorova and Polina A. Losenkova performed comparative dissolution kinetics test and physiological relevance test, Yuri V. Medvedev performed quantitative release assessment by high-performance liquid chromatography and supervised the work. Ksenia K. Karnakova and Natalia S. Bagaeva performed statistical processing of the data. All authors participated in writing the text of the article and discussing the results.

For citation: Suvorova A. V., Losenkova P. A., Medvedev Yu. V., Malashenko E. A., Karnakova K. K., Bagaeva N. S., Savchenko A. Yu., Poluyanov A. M., Shohin I. E. Application of *in vitro* studies to predict the pharmacokinetics of rivaroxaban tablets. *Drug development & registration*. 2024;13(3):186–198. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-3-1908>

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшим этапом фармацевтической разработки воспроизведенного ЛС является клиническое исследование с участием человека – исследование биоэквивалентности. В процессе фармацевтической разработки воспроизведенных ЛС происходит подбор условий производства, нарабатываются различные серии. Следующий этап – выбор серии для проведения исследования биоэквивалентности.

На этом этапе для предварительно отобранных серий необходимо проводить *in vitro* испытания. Самым простым экспериментом, который присутствует в нормативной документации на все твердые лекарственные формы, является тест растворения [1, 2]. Логическим продолжением этого испытания является ТСРП (тест сравнительной кинетики растворения) [3].

Существуют также подходы, в которых реализованы более сложные модели, например, тест в биореlevantных средах. [4] Но данные испытания не

являются обязательными, несмотря на их важность для проблемных препаратов, например относящихся к подклассу IIc биофармацевтической классификационной системы (БКС) [5, 6].

Типичным представителем II класса БКС являются препараты ривароксана, содержащие в качестве действующего вещества небольшую молекулу ($M = 436$ г/моль), практически нерастворимую в воде. С точки зрения фармакологии ривароксан является прямым ингибитором фактора Ха. Важность его применения была доказана, в частности, во время пандемии SARS-CoV-2 [7, 8].

Учитывая важность препарата при лечении ряда заболеваний, а также нахождение в перечне жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, в рамках обеспечения технологического суверенитета требуется использование научных робастных и эффективных методов определения качества готовой лекарственной формы, помимо обязательных, регуляторных исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Объектами исследования являлись: «Ксарелто», таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг» (серия BXJS871, срок годности до 31.10.2024, Bayer AG, Германия), «Ксарелто», таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг» (серия BXKDF32, срок годности до 17.05.2026, Bayer AG, Германия), «Ривароксабан, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг» отечественного производства, с действующим сроком годности и «Ривароксабан, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг» отечественного производства, с действующим сроком годности.

Реактивы и растворы

В процессе исследования были использованы следующие реактивы: вода очищенная, тип I; хлористоводородная кислота (HCl) концентрированная (класс «х.ч.», ООО «Сигма Тек», Россия); ортофосфорная кислота (H_3PO_4) концентрированная (класс «for HPLC», Scharlau, Испания); натрия гидроксид (NaOH) (класс «ч.д.а.», ООО «Компонент-Реактив», Россия); натрий фосфорнокислый 2-замещенный (Na_2HPO_4), безводный (класс «х.ч.», ООО «Компонент-Реактив», Россия); натрия хлорид (NaCl) (класс «х.ч.», ООО «Компонент-Реактив», Россия); натрия лаурилсульфат (SDS) (класс «EP/USP», ООО «АЛЬДОСА», Россия), порошок для приготовления биорелевантных сред (БРС) SC Powder (ООО «Сайнтифик Комплайнс», Россия); ацетонитрил (ACN) (класс «HPLC gradient grade», Biosolve, Франция).

ТСКР проводили на тестере растворения Agilent 708-DS (Agilent Technologies, США). Физиологически релевантный тест (ФРТ) проводили на аппарате СК ФРТ-6 (ООО «Сайнтифик Комплайнс», Россия). Определение концентраций в ходе ТСКР в среде натрия лаурилсульфата проводили методом СФМ на приборе СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия). Хроматографическое разделение и оценку количественного содержания ривароксабана в рамках ТСКР в БРС и ФРТ проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Хроматэк-Кристалл ВЭЖХ 2014» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия) при длине волны 250 нм. Время хроматографирования составило 6 мин. Использовали колонку HPLC Column C18, 4,6 × 100 мм, 5 мкм (GL Sciences™ Inc., Япония), помещенную в колоночный термостат, поддерживающий температуру 35 °C на протяжении всего аналитического цикла. Режим элюирования – изократический (А:В – 55:45), в качестве подвижной фазы А выступал 0,2%-й раствор H_3PO_4 , фазы В – ацетонитрил.

Условия проведения ТСКР в среде растворения раствор SDS: аппарат «Лопастная мешалка» при скорости вращения 50 об/мин, 500 мл среды растворения, предварительно термостатированные при $37 \pm 0,5$ °C, временные точки отбора – 10, 15, 20, 30, 45, 60,

80, 100, 120, 180 мин. Среда растворения – 0,1%-й раствор натрия лаурилсульфата в фосфатном буферном растворе с pH 6,5.

Условия проведения БРС теста: аппарат «Лопастная мешалка» при скорости вращения 50 об/мин, 500 мл среды растворения, предварительно термостатированные при $37 \pm 0,5$ °C, временные точки отбора – 10, 15, 20, 30, 45, 60, 80, 100, 120, 180 мин, среда растворения – биорелевантная среда FaSSIF с pH 6,5. Методика приготовления: к 1000 мл воды очищенной добавляли 0,42 г NaOH, 3,95 г NaH_2PO_4 , 6,19 г NaCl, измеряли значение pH, в случае необходимости доводили значение pH до $6,5 \pm 0,05$ 0,1 М раствором HCl или 0,1 М раствором NaOH. В 500 мл полученного буферного раствора вносили 2,24 г порошка и тщательно перемешивали, а затем добавляли еще 500 мл буферного раствора.

Условия проведения ФРТ: последовательная схема – первый отдел содержал раствор биорелевантной среды растворения FaSSGF в количестве 50 мл и 250 мл воды очищенной (стакан воды, которым запивают таблетку), общий стартовый объем составлял 300 мл, а значение pH данного раствора – 2,84. Отдел, имитирующий желудок, опорожнялся по уравнению кинетики первого порядка, период полуопорожнения составил 18 мин, а время полного опорожнения (до объема 50 мл) – 38,6 мин. Методика приготовления FaSSGF: к 1000 мл раствора хлористоводородной кислоты добавляли 2,00 г NaCl и измеряли значение pH, в случае необходимости доводили значение pH до $2,0 \pm 0,05$ 0,1 М раствором HCl. К полученному раствору добавляли 0,060 г порошка для приготовления биорелевантных сред, перемешивали до полного растворения и использовали в течение 24 ч.

Второй отдел (12-перстная кишка) в начале теста заполнялся биорелевантной средой растворения FaSSIF со значением pH 6,5, стартовый объем в течение всего теста был постоянен и составлял 75 мл. Третий отдел (кишечник): стартовый объем был равен нулю, но к концу теста доходил до 390 мл. Точки отбора совпадали во всех стаканах, и отбор проб осуществлялся на 5, 10, 15, 20, 30, 35, 60 и 80-й минуте теста.

Гибридная схема – первый и третий отделы в начале теста пустые, для второго отдела в качестве содержимого было использовано 50 мл раствора биорелевантной среды растворения FaSSGF, к нему добавлялось 250 мл воды очищенной (стакан воды, которым запивают таблетку), общий стартовый объем составлял 300 мл. Этот отдел, имитирующий желудок натошак, опорожнялся в первый стакан по уравнению кинетики первого порядка в течение 40 мин, после чего в него начинал поступать секрет в виде биорелевантной среды растворения FaSSIF со значением pH 6,5. После 45-й мин теста в первый отдел переходил весь объем биорелевантной сре-

ды растворения FaSSGF, и он начинал имитировать желудок; второй и третий отделы после поступления во второй стакан секрета и перекачки среды из первого стакана в третий начинали имитировать 12-перстную кишку и кишечник соответственно. При этом осуществлялась постоянная секреция среды FaSSIF во второй отдел со скоростью 1 мл/мин и перекачка со скоростью 2 мл/мин из одного отдела в другой. Во время проведения теста точки отбора из разных отделов варьировались: так, из первого отдела проба отбиралась на 10, 20, 30, 40, 100 и 180-й минуте, из второго отдела – на 10, 20, 30, 40, 45, 50, 60, 100, 120, 140, 160 и 180-й минуте, из третьего – на 60, 100, 120, 140, 160 и 180-й минуте.

В обоих тестах скорость лопастной мешалки составляла 25 об/мин, также был активен режим ускорения вращения, моделирующий реальную моторику желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), в ходе которого каждые 5 мин осуществлялось ускорение лопастей до 180 об/мин, продолжавшееся в течение 15 с, после чего все возвращалось к первоначальным условиям.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ривароксабан относится к веществам II класса БКС, обладающим низкой растворимостью в воде и высокой проницаемостью [10]. При этом вещество относят к подклассу «с» (неоионизируемые вещества), что говорит о том, что на растворимость вещества не влияет pH на всем протяжении ЖКТ [11]. С учетом этих особенностей вещество требует внимательного подхода при фармацевтической разработке и оценке качества препарата.

Дизайн эксперимента был построен в обратном порядке, отличном от последовательного процесса фармацевтической разработки (рисунок 1): после получения неудовлетворительных результатов на клиническом этапе проводился комплекс испытаний *in vitro* для серий, которые были использованы в рамках клинического исследования с целью выявить дискриминативность существующих инструментов и оценить корреляцию с результатами клинической части исследования.

В ходе проведения доклинических испытаний для препарата проводился ТСКР в фармакопейных средах растворения согласно требованиям нормативной

документации, где были получены сопоставимые результаты для изучаемых препаратов. Поэтому в качестве пилотного эксперимента было проведено испытание в среде 0,1%-го раствора натрия лаурилсульфата в фосфатном буферном растворе с pH 6,5, так как она предварительно является более дискриминативной за счет наличия поверхностно-активных веществ (ПАВ). Полученные профили высвобождения приведены на рисунке 2

Анализ полученных данных показал качественные и количественные различия в высвобождении пары лекарственных препаратов. Но, учитывая специфику сред с добавлением анионных ПАВ, обусловленную низкой физиологичностью, было принято решение использовать биорелевантные среды растворения, обеспечивающие свойства, приближенные к условиям желудочно-кишечного тракта человека.

С учетом класса и подкласса БКС вещества была выбрана среда растворения FaSSIF (среда, имитирующая секрет кишечника натошак), содержащая ПАВ в количестве 2,24 г на 1 л раствора. Количественное определение проводилось методом ВЭЖХ-УФ, так как вещества, которые входят в состав порошка для приготовления биорелевантной среды растворения, поглощают в ультрафиолетовой области и могут иметь максимум, схожий с максимумом целевого анализа. Полученные результаты ТСКР в БРС для дозировки 20 мг представлены на рисунке 3.

Можно отметить, что результаты, полученные в условиях среды FaSSIF и SDS, различаются между собой, степень высвобождения референтного препарата понизилась в два раза, но при этом тестовый препарат стал высвобождаться лучше. Учитывая эти особенности, было принято решение применить ФРТ с целью максимального воссоздания условий желудочно-кишечного тракта человека *in vitro* и – ключевое – добавить фактор физиологического транзита между отделами.

Для испытания пары препаратов, помимо классической последовательной схемы (рисунок 4 А), была впервые использована гибридная схема проведения исследования (рисунок 4 Б).

Применение гибридной схемы оправданно в первую очередь для препаратов, относящихся к подклассу IIa БКС, что связано с низкой растворимостью в кислой среде (первый отдел ФРТ) и занижением степени перехода действующего вещества в последующие отделы в ходе теста. Помимо этого, данная

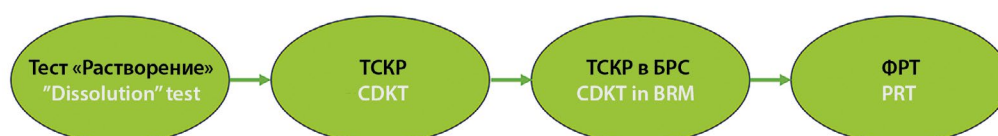


Рисунок 1. Этапы испытаний в фармацевтической разработке

Figure 1. The stages of tests in pharmaceutical development

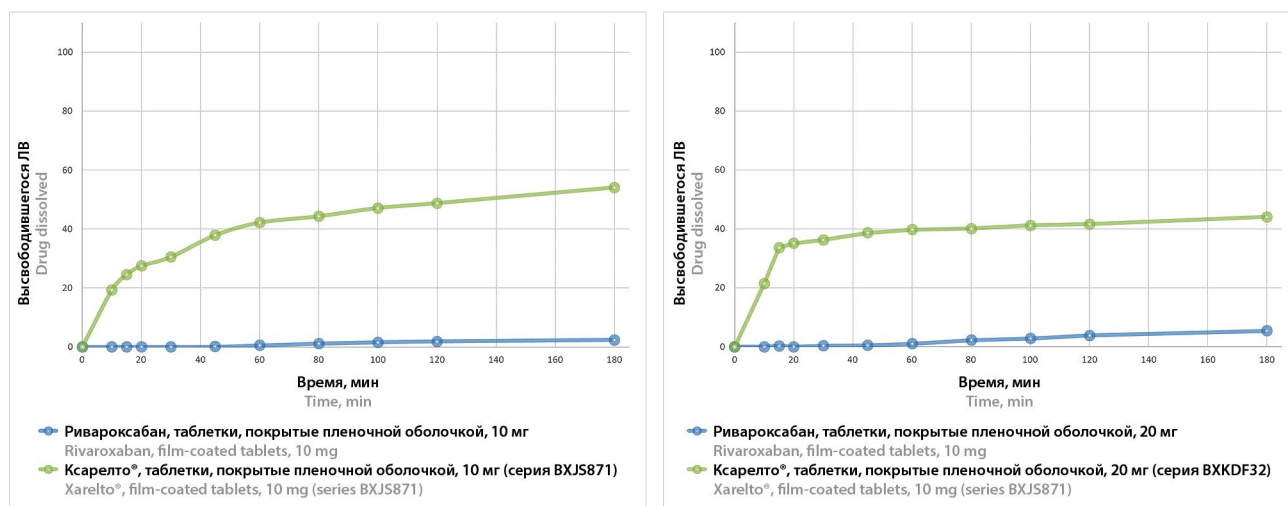


Рисунок 2. Результаты ТСКР в среде 0,1%-го раствора натрия лаурилсульфата в фосфатном буферном растворе с pH 6,5

Figure 2. Results of CDKT in a 0.1 % sodium lauryl sulfate solution in a phosphate buffer solution pH 6.5

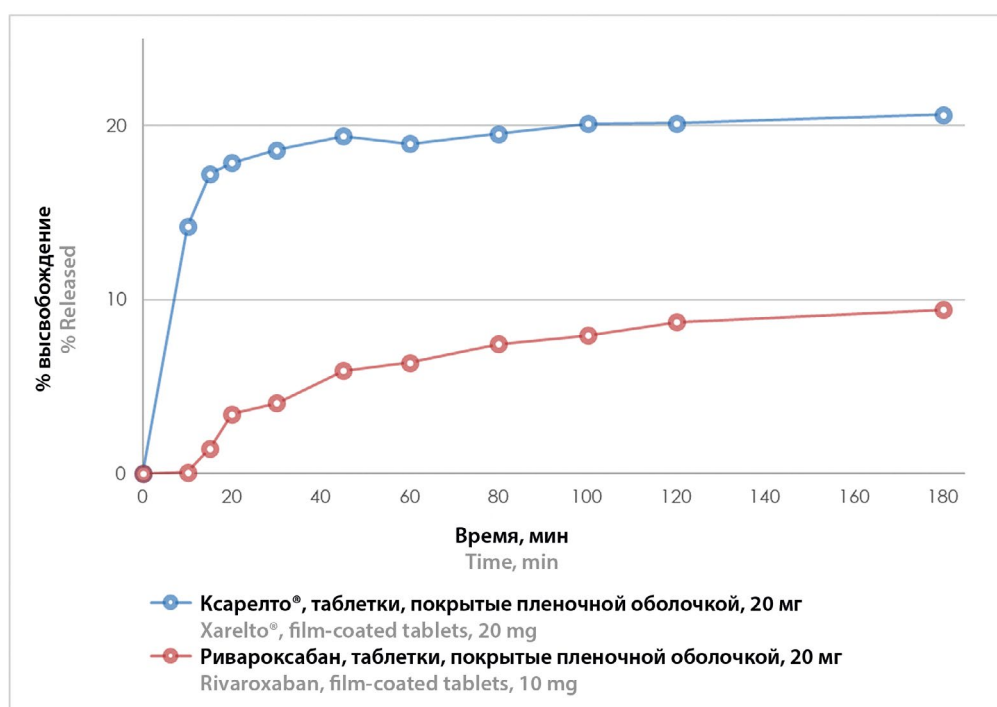


Рисунок 3. Результаты высвобождения ривароксабана в дозировке 20 мг при проведении ТСКР в БРС

Figure 3. Results of the release of rivaroxaban at a dosage of 20 mg during CDKT in the BRM

схема допустима для препаратов с низкой скоростью распадаемости лекарственной формы, что ведет к замедлению или отсутствию транзита, хотя в условиях ЖКТ человека транзит до последующих отделов не лимитируется. В рамках исследования ривароксабана применение гибридной схемы оправданно в силу низкой растворимости вне зависимости от pH.

Полученные профили высвобождения ривароксабана для референтного и испытуемого препаратов в дозировке 10 мг по гибридной схеме представлены на рисунках 5 и 6 соответственно, для дозировки 20 мг референтного и испытуемого препаратов профили высвобождения представлены на рисунках 7 и 8 соответственно.

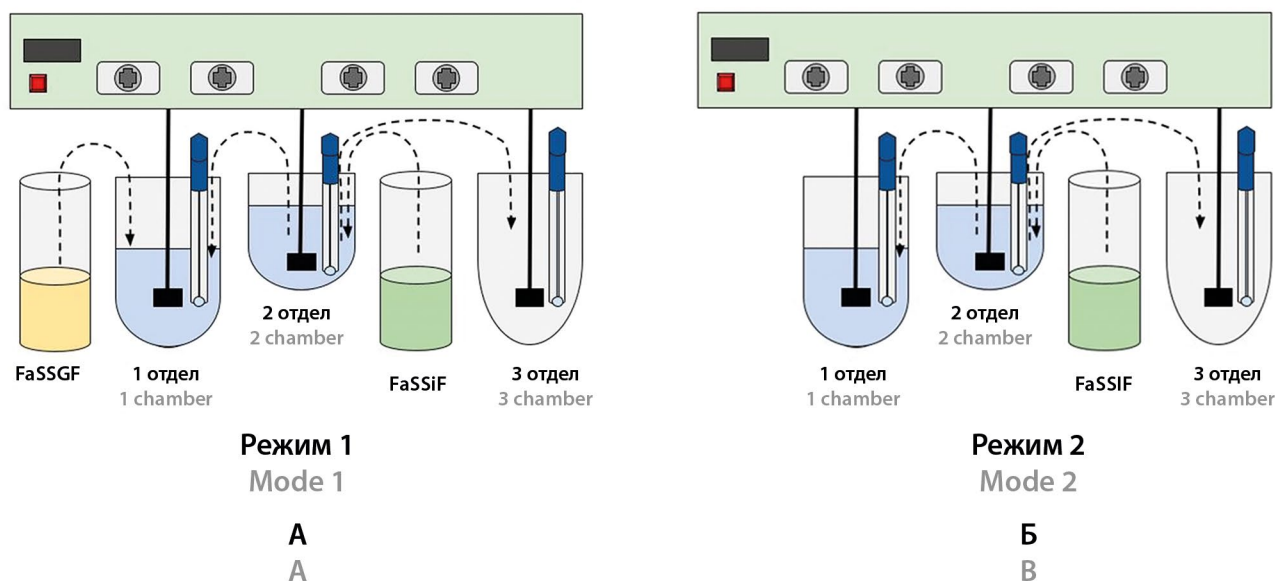


Рисунок 4. Режимы работы аппарата:

А – последовательная схема; Б – гибридная схема

Figure 4. Operation modes:

A – sequential scheme; B – hybrid scheme

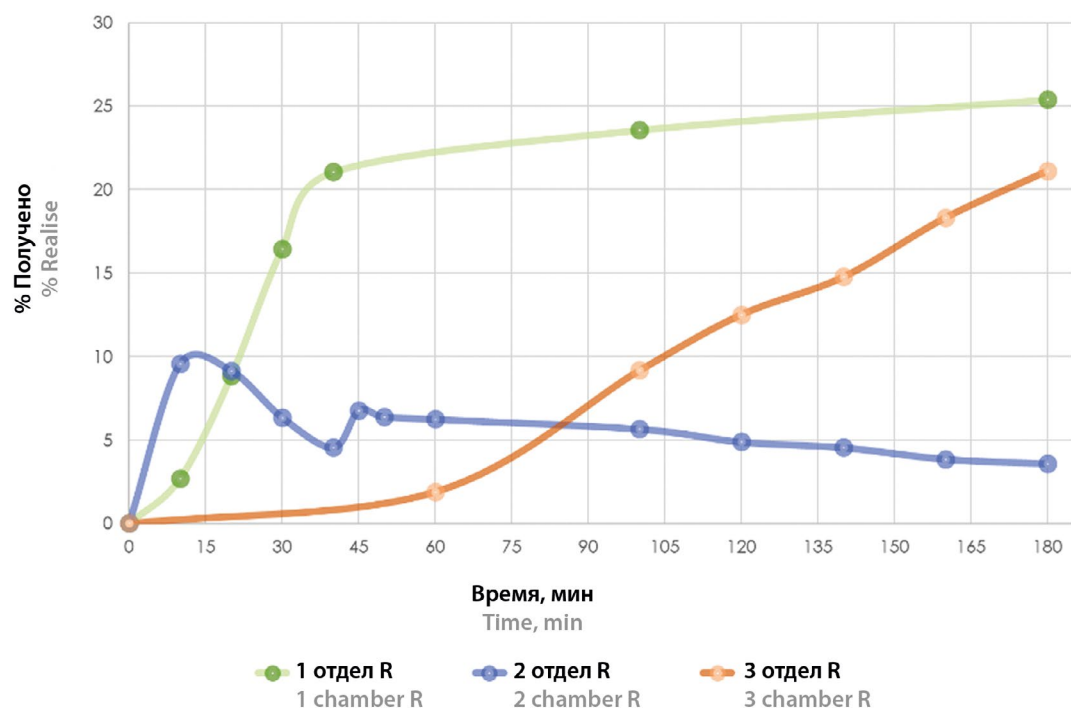


Рисунок 5. Усредненные профили растворения ривароксабана в лекарственном средстве «Ксарелто®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг» в трех отделах аппарата

Figure 5. Average dissolution profiles of rivaroxaban in "Xarelto® film-coated tablets, 10 mg" in three chambers of the apparatus

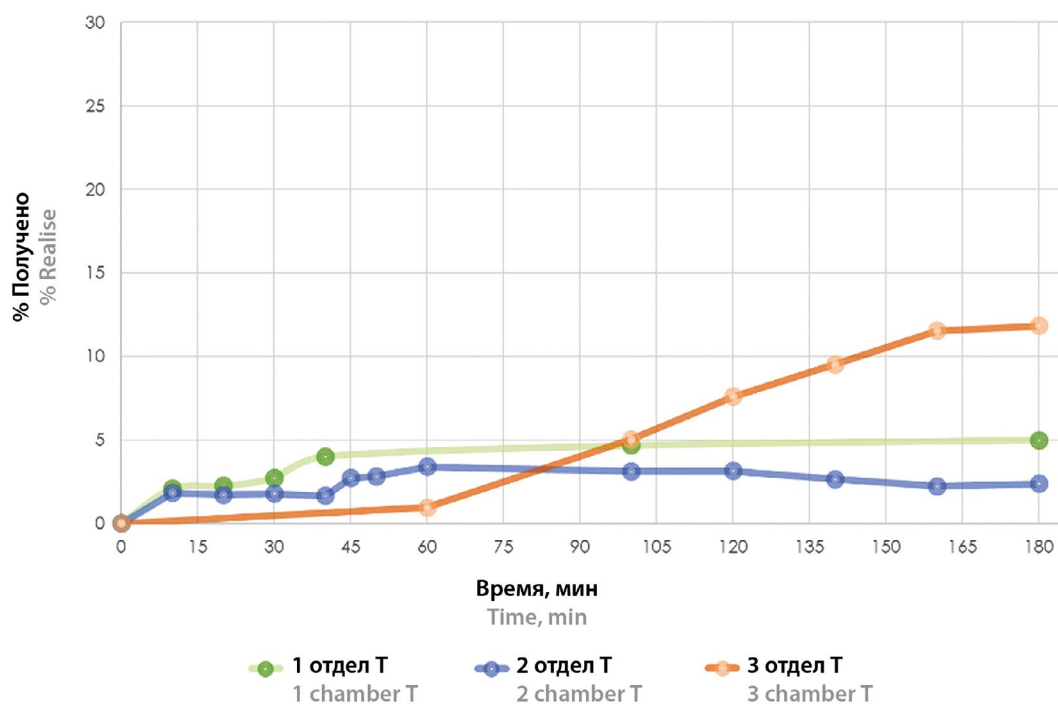


Рисунок 6. Усредненные профили растворения ривароксабана в лекарственном средстве «Ривароксабан, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг» в трех отделах аппарата

Figure 6. Average dissolution profiles of rivaroxaban in "Rivaroxaban, film-coated tablets, 10 mg" in three chambers of the apparatus

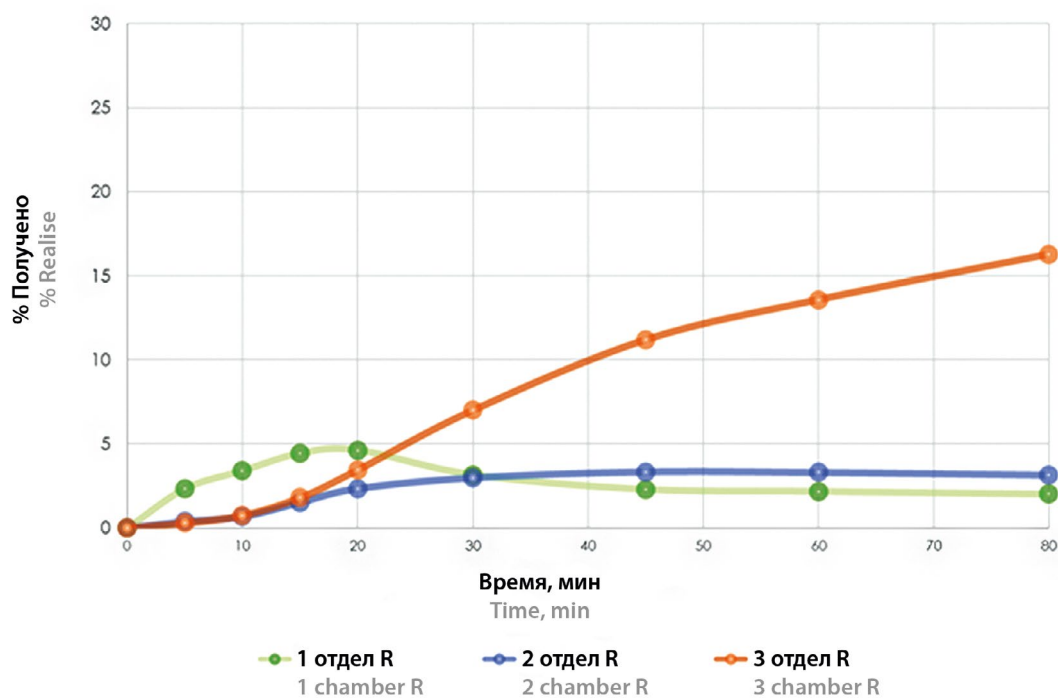


Рисунок 7. Усредненные профили растворения ривароксабана в лекарственном средстве «Ксарелто®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг» в трех отделах аппарата

Figure 7. Average dissolution profiles of rivaroxaban in "Xarelto® film-coated tablets, 20 mg" in three chambers of the apparatus

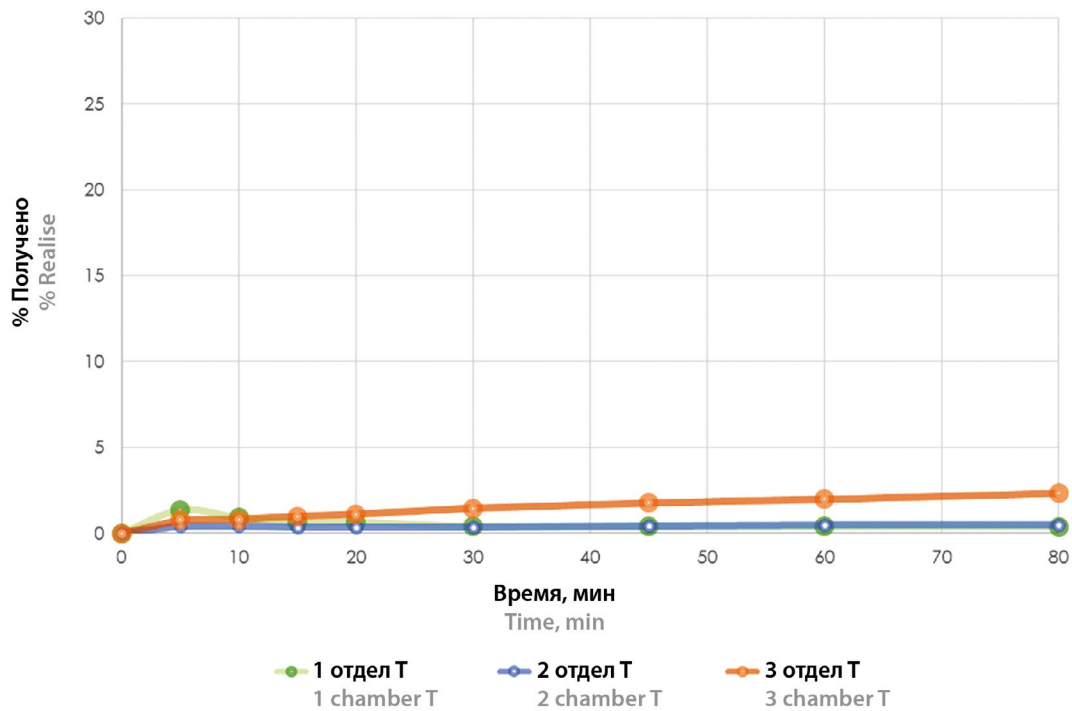


Рисунок 8. Усредненные профили растворения ривароксабана в лекарственном средстве «Ривароксабан, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг» в трех отделах аппарата

Figure 8. Average dissolution profiles of rivaroxaban in "Rivaroxaban, film-coated tablets, 20 mg" in three chambers of the apparatus

При использовании последовательной схемы можно отметить отсутствие транзита в последующие отделы для тестового препарата, по-видимому, из-за низкой распадаемости таблетки в первом отделе аппарата, имитирующем желудок. По результатам проведенного ФРТ по гибридной схеме были получены более показательные данные и предсказаны фармакокинетические профили, после чего сделано заключение о сопоставимости с клиническими исследованиями, которые проводились для изучаемых серий лекарственных препаратов.

При предсказании были использованы данные о молекуле ривароксабана, которые приведены в таблице 1.

Для симуляции фармакокинетических профилей была использована виртуальная популяция, состоящая из 30 добровольцев мужского пола, европеоидной расы, возрастом от 18 до 45 лет и индексом массы тела 18,5–29,9 кг/м², препарат принимался единожды натощак, забор крови проводился в течение 48 часов. В основу параметров виртуальной популяции легли данные добровольцев из проведенных клинических исследований.

Профили для лекарственных препаратов ривароксабана в дозировке 10 мг, которые были получены в рамках физиологически обоснованного фармакокинетического моделирования и при проведении

клинического исследования представлены на рисунках 9 и 10 соответственно. Для дозировки 20 мг смоделированные профили и профили, полученные в рамках клинического исследования представлены на рисунках 11 и 12.

Таблица 1. Параметры, использованные в ФОФМ

Table 1. Summary of parameters used in PBPK model

Параметр Parameter	Значение Value
Молярная масса MW	435,881 г/моль 435.881 g/mol
Липофильность Log P	1,74
Фракция препарата, несвязанная с компонентами плазмы fu	5 %
Константа диссоциации кислоты Константа диссоциации кислоты pKa	13,6
Растворимость при pH = 7,0 Dissolution at pH = 7,0	10,0 мкг/мл 10,0 ug/ml
Фермент, участвующий в метаболизме Metabolizing enzymes	CYP3A4, CYP2J2
Транспортный белок Transport protein	P-gp, BCRP

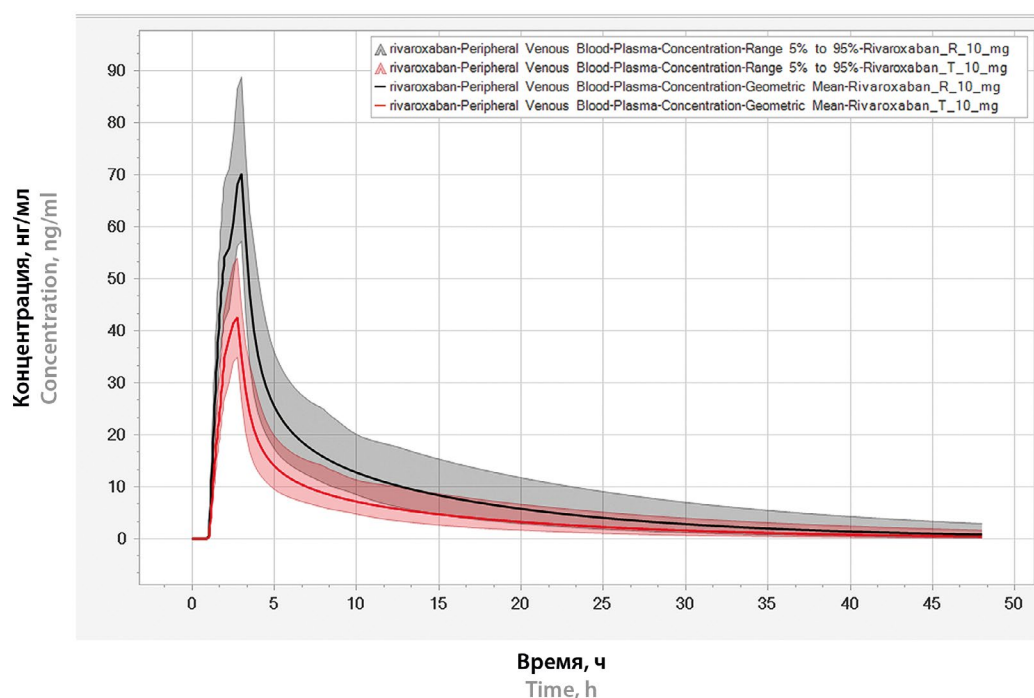


Рисунок 9. Фармакокинетические профили для исследуемого и референтного лекарственных препаратов в дозировке 10 мг, предсказанные ФОФМ

Figure 9. Pharmacokinetic profiles test and reference drugs predicted by PBPK for dose 10 mg

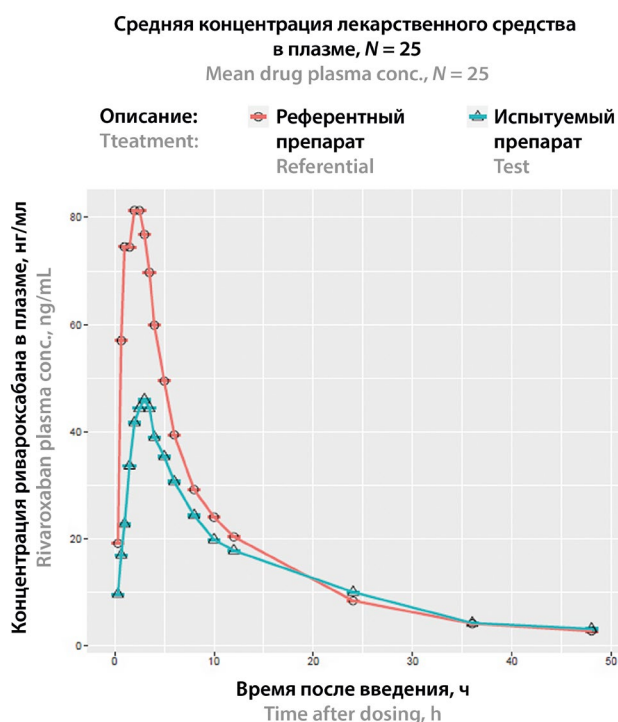


Рисунок 10. Фармакокинетические профили для исследуемого и референтного лекарственных препаратов в дозировке 10 мг, полученные в ходе клинического исследования

Figure 10. Pharmacokinetic profiles test and reference drugs obtained during the clinical trial for dose 10 mg

На представленных выше рисунках расположение профилей испытуемого и референтного препаратов относительно друг друга совпадает между смоделированными данными и данными полученными при проведении клинического исследования. Аналогичное расположение профилей относительно друг друга сохраняется и в рамках ФОФМ для разных дозировок препарата ривароксабана (10 и 20 мг), несмотря на различие в схемах проведения физиологически релевантного теста. Однако, различия между испытуемым и референтным препаратами не достоверны при проведении испытания по классической последовательной схеме: предсказанный фармакокинетический профиль испытуемого препарата сильно занижен относительно профиля, полученного на клиническом этапе для этого же препарата.

Для оценки меры различия между смоделированными данными и данными из клинического исследования были рассчитаны отношения среднегеометрических значений фармакокинетических параметров исследуемого лекарственного препарата по отношению к референтному препарату. На основании полученного значения была вычислена погрешность прогнозирования, полученные результаты приведены в таблице 2.

Из-за полученных в ходе предсказания данных для испытуемого препарата для дозировки 20 мг погрешность предсказания по отношению к данным клинического исследования столь высока:

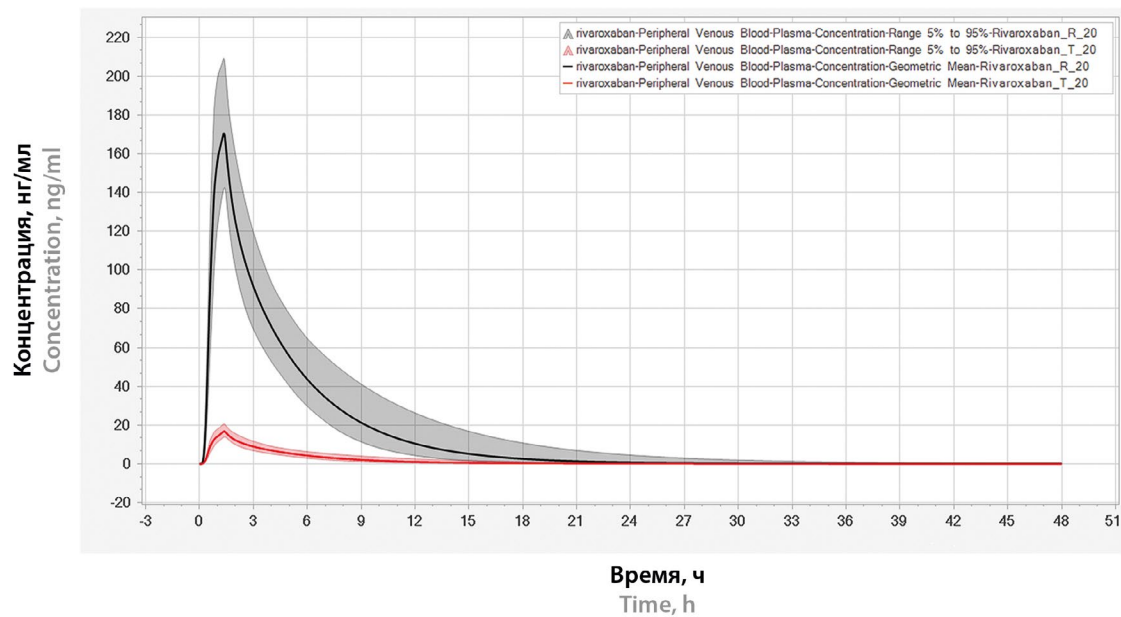


Рисунок 11. Фармакокинетические профили для исследуемого и референтного лекарственных препаратов в дозировке 20 мг, предсказанные ФОФМ

Figure 11. Pharmacokinetic profiles test and reference drugs predicted by PBPK for dose 20 mg

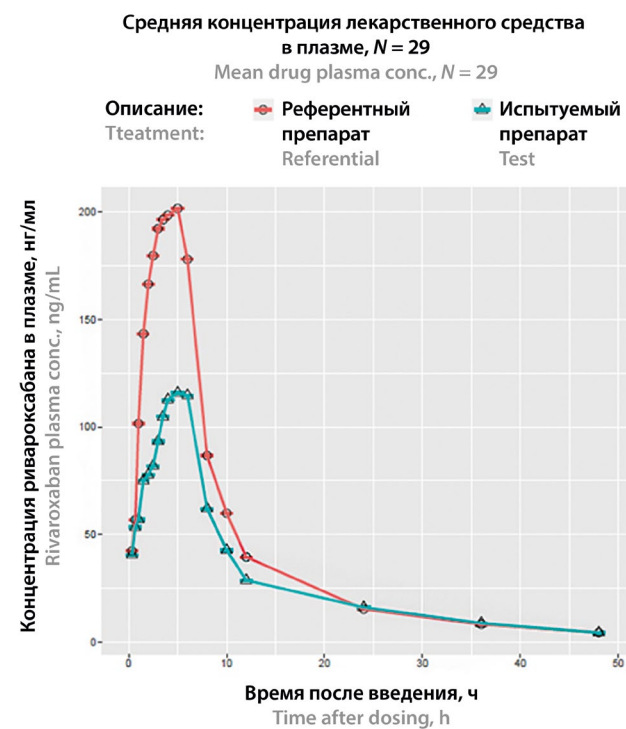


Рисунок 12. Фармакокинетические профили для исследуемого и референтного лекарственных препаратов в дозировке 20 мг, полученные в ходе клинического исследования.

Figure 12. Pharmacokinetic profiles test and reference drugs obtained during the clinical trial for dose 20 mg

$AUC_{0-t} = -14,83\%$ и $C_{max} = -551,72\%$, что можно сделать вывод – классическая последовательная схема проведения ФРТ не оптимальна для испытуемого препарата.

Таблица 2. Значения отношений среднегеометрических значений фармакокинетических параметров исследуемого лекарственного препарата к референтному лекарственному препарату

Table 2. Values of the ratio of the geometric mean values of the pharmacokinetic parameters of the studied drug to the reference drug

Параметр Parameter	Данные, полученные при проведении клинических исследований Data from clinical trials	Данные, полученные в рамках симуляции Data from the simulation	Погрешность прогнозирования для отношений геометрических средних T/R, % Prediction error (PE) for geometric mean ratio T/R, %
Данные для дозировки 10 мг Data for dose 10 mg			
AUC_{0-t}	77,95	56,63	-37,64
C_{max}	51,68	59,21	12,71
Данные для дозировки 20 мг Data for dose 20 mg			
AUC_{0-t}	69,43	9,71	-614,83
C_{max}	64,12	9,84	-551,72

При этом для дозировки 10 мг погрешность предсказания параметра $C_{\max}$ близка к 10 %, что является более корректным результатом (при проведении IVIVC к моделям предъявляется требование погрешность не более 10 %). Для параметра AUC_{0-t} наблюдается низкая точность предсказания, что в свою очередь может быть связано с несколькими факторами:

1. При моделировании, временной интервал между точками построения на всех участках профиля одинаков, в то время как профили, полученные при проведении клинических исследований, строятся по точкам с разными временными интервалами, что сказывается на форме профиля на фазе элиминации.
2. При анализе фармакокинетических профилей от добровольцев были отмечены случаи нетипичной формы, но в рамках предсказанных профилей, полученных при проведении *in vitro* теста подобные случаи не встречались

Результаты эксперимента открывают новые пути совершенствования проведения *in vitro* испытаний и проведения ФОФМ с целью предсказания результатов фармакокинетических исследований с высокой степенью достоверности оценки прогнозирования. При этом стоит отметить важность индивидуального научного подхода к методике проведения испытаний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен комплекс *in vitro* испытаний ФРТ для препаратов Ксарелто® и «Ривароксабан». Количественное определение осуществлялось валидованными методами СФМ и ВЭЖХ-УФ.

В процессе проведения исследований лекарственных препаратов отечественного производства «Ривароксабан, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг и 20 мг» был проведен ТСКР в среде, содержащей раствор SDS, в результате которого было показано крайне низкое высвобождение и неэквивалентность референсному препарату «Ксарелто®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг и 20 мг». В целях дальнейшего прогнозирования поведения ЛП «Ривароксабан, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг и 20 мг» и «Ксарелто®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг и 20 мг» было проведено ФРТ-исследование, результаты которого легли в основу ФОФМ-исследования. Результаты моделирования были сопоставлены с результатами фармакокинетики исследуемых препаратов и рассчитана ошибка прогнозирования для отношения среднегеометрических значений фармакокинетических параметров. Для дозировки 20 мг она составила 614,83 % для AUC_{0-t} и – 551,72 % для $C_{\max}$; для дозировки 10 мг она составила 37,64 % для AUC_{0-t} и 12,71 % для $C_{\max}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дружининская О. В., Смехова И. Е. Применение теста «Растворение» для оценки фармацевтической эквивалентности дженериков аторвастатина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;(1):166–172.
2. Давыдова К. С., Кулинич Ю. И., Шохин И. Е. Тест «Растворение» в контроле качества лекарственных средств. *Ремедиум*. 2010;(5):42.
3. 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. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2013;(12):50–61.
4. Dressman J. Evolution of Dissolution Media Over the Last Twenty Years. *Dissolution Technologies*. 2014;(21):6–10. DOI: 10.14227/DT210314P6.
5. Дружининская О. В., Смехова И. Е. Среды растворения, применяемые в разработке и контроле качества лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(3):144–150.
6. Naing M. D., Tsume Y. Dissolution profiles of BCS class II drugs generated by the gastrointestinal simulator alpha has an edge over the compendial USP II method. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2024;203: 114436. DOI: 10.1016/j.ejpb.2024.114436.
7. Ramacciotti E., Agati L. B., Calderaro D., Resende Aguiar V. C., Spyropoulos A. C., Carvalho de Oliveira C. C., Lins dos Santos J., Volpiani G. G., Sobreira M. L., Joviliano E. E., Bohatch Júnior M. S., Lopes da Fonseca B. A., Ribeiro M. S., Dusilek C., Itinose K., Viana Sanches S. M., de Almeida Araujo Ramos K., Franzin de Moraes N., Guimarães Morando Marzocchi Tierno P. F., Malavasi Longo de Oliveira A. L., Tachibana A., Caruso Chate R., Vinícius Barbosa Santos M., Bezerra de Menezes Cavalcante B., Cesar Rocha Moreira R., Chang C., Tafur A., Fareed J., Lopes R. D., Benvenuto Caltabiano T., Hattori B., da Silva Jardim M., Marinho I., Marinho I. S., Melo Batista L. M., Rivabem L., Kenji Nakashima C. A., Gois Franco A. C., de Oliveira Pereira R. F., Strack Neves G. C., de Castro e Souza I., Moraes Ribas B., Ramos Tristão F., Vinicius Barbosa Santos M. Rivaroxaban versus no anticoagulation for post-discharge thromboprophylaxis after hospitalisation for COVID-19 (MICHELLE): an open-label, multicentre, randomised, controlled trial. *The Lancet*. 2022;399(10319):50–59. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02392-8.
8. Kumar D., Kaimaparambil V., Chandralekha S., Lalchandani J. Oral Rivaroxaban in the Prophylaxis of COVID-19 Induced Coagulopathy. *The Journal of the Association of Physicians of India*. 2022;70(2):11–12.
9. Kushwah V., Arora S., Katona M. T., Modhave D., Fröhlich E., Paudel A. On Absorption Modeling and Food Effect Prediction of Rivaroxaban, a BCS II Drug Orally Administered as an Immediate-Release Tablet. *Pharmaceutics*. 2021;13(2):283. DOI: 10.3390/pharmaceutics13020283.
10. Takács-Novák K., Szőke V., Völgyi G., Horváth P., Ambrus R., Szabó-Révész P. Biorelevant solubility of poorly soluble drugs: Rivaroxaban, furosemide, papaverine and niflumic acid. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2013;83:279–285. DOI: 10.1016/j.jpba.2013.05.011.

11. García M. A., Cristofolletti R., Abrahamsson B., Groot D. W., Parr A., Polli J. E., Mehta M., Shah V. P., Tomakazu T., Dressman J. B., Langguth P. Biowaiver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Carbamazepine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;110(5):1935–1947. DOI: 10.1016/j.xphs.2021.02.019.

REFERENCES

1. Druzhininskaya O. V., Smekhova I. E. Use of dissolution test for evaluation of pharmaceutical equivalence of atorvastatin generics. *Drug development & registration*. 2018;(1):166–172. (In Russ.)
2. Davydova K. S., Kulinich Yu. I., Shokhin I. E. Test "Dissolution" in quality control of medicines. *Remedium*. 2010;(5):42. (In Russ.)
3. Smekhova I. E., Perova Yu. M., Kondratyeva I. A., Rodygina A. N., Turetskova N. N. "Dissolution" test and modern approaches to assessing drug equivalence vein drugs. *Drug development & registration*. 2013;1(2):50–61. (In Russ.)
4. Dressman J. Evolution of Dissolution Media Over the Last Twenty Years. *Dissolution Technologies*. 2014;(21):6–10. DOI: 10.14227/DT210314P6.
5. Druzhininskaya O. V., Smekhova I. E. Dissolution media used in development and quality control of drugs. *Drug development & registration*. 2017;(3):144–150. (In Russ.)
6. Naing M. D., Tsume Y. Dissolution profiles of BCS class II drugs generated by the gastrointestinal simulator alpha has an edge over the compendial USP II method. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2024;203:114436. DOI: 10.1016/j.ejpb.2024.114436.
7. Ramacciotti E., Agati L. B., Calderaro D., Resende Aguiar V. C., Spyropoulos A. C., Carvalho de Oliveira C. C., Lins dos Santos J., Volpiani G. G., Sobreira M. L., Joviliano E. E., Bohatch Júnior M. S., Lopes da Fonseca B. A., Ribeiro M. S., Dusilek C., Itinose K., Viana Sanches S. M., de Almeida Araujo Ramos K., Franzin de Moraes N., Guimarães Morando Marzocchi Tierno P. F., Malavasi Longo de Oliveira A. L., Tachibana A., Caruso Chate R., Vinícius Barbosa Santos M., Bezerra de Menezes Cavalcante B., Cesar Rocha Moreira R., Chang C., Tafur A., Fareed J., Lopes R. D., Benevenuto Caltabiano T., Hattori B., da Silva Jardim M., Marinho I., Marinho I. S., Melo Batista L. M., Rivabem L., Kenji Nakashima C. A., Gois Franco A. C., de Oliveira Pereira R. F., Strack Neves G. C., de Castro e Souza I., Moraes Ribas B., Ramos Tristão F., Vinicius Barbosa Santos M. Rivaroxaban versus no anticoagulation for post-discharge thromboprophylaxis after hospitalisation for COVID-19 (MICHELLE): an open-label, multicentre, randomised, controlled trial. *The Lancet*. 2022;399(10319):50–59. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02392-8.
8. Kumar D., Kaimaparambil V., Chandralekha S., Lalchandani J. Oral Rivaroxaban in the Prophylaxis of COVID-19 Induced Coagulopathy. *The Journal of the Association of Physicians of India*. 2022;70(2):11–12.
9. Kushwah V., Arora S., Katona M. T. Modhave D. Fröhlich E. Paudel A. On Absorption Modeling and Food Effect Prediction of Rivaroxaban, a BCS II Drug Orally Administered as an Immediate-Release Tablet. *Pharmaceutics*. 2021;13(2):283. DOI: 10.3390/pharmaceutics13020283.
10. Takács-Novák K., Szőke V., Völgyi G., Horváth P., Ambrus R., Szabó-Révész P. Biorelevant solubility of poorly soluble drugs: Rivaroxaban, furosemide, papaverine and niflumic acid. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2013;83:279–285. DOI: 10.1016/j.jpba.2013.05.011.
11. García M. A., Cristofolletti R., Abrahamsson B., Groot D. W., Parr A., Polli J. E., Mehta M., Shah V. P., Tomakazu T., Dressman J. B., Langguth P. Biowaiver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Carbamazepine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;110(5):1935–1947. DOI: 10.1016/j.xphs.2021.02.019.