



С.В. Моисеев<sup>1</sup>    
Н.Е. Кузьмина<sup>1</sup>   
Е.Ю. Северинова<sup>1</sup>   
Н.Д. Бунятян<sup>1,2</sup>   
В.А. Евтеев<sup>1</sup> 

## Изучение методами спектроскопии ЯМР влияния молекулярной массы гипромеллозы фталата на его растворимость

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

✉ Моисеев Сергей Владимирович; [MoiseevSV@expmed.ru](mailto:MoiseevSV@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Гипромеллозы фталат используют как компонент кишечнорастворимых оболочек перорально принимаемых препаратов. Долю фталатных групп в этом полимере нормируют, так как она оказывает существенное влияние на растворимость. Молекулярная масса гипромеллозы фталата не контролируется, и ее влияние на растворимость в средах с различным значением pH изучено недостаточно.

**Цель.** Изучение методами спектроскопии ЯМР влияния молекулярной массы гипромеллозы фталата на кинетику растворения.

**Материалы и методы.** В качестве объекта исследования использовали гипромеллозы фталат, выделенный из кишечнорастворимых оболочек препаратов группы ингибиторов протонной помпы, и его стандартный образец. Оценка молекулярной массы полимера проводили методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР, используя для калибровки полиэтиленгликоли с известной молекулярной массой. Профили растворения гипромеллозы фталата с различной молекулярной массой изучали на основе спектров <sup>1</sup>H ЯМР.

**Результаты.** Разработана методика оценки средней молекулярной массы гипромеллозы фталата методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР. Установлено, что образцы гипромеллозы фталата различаются по величине молекулярной массы полимера (наблюдаемый разброс значений молекулярной массы составил 10 кДа). Показано, что профиль растворения анализируемых образцов гипромеллозы фталата в водном буферном растворе (pH 5,59) в течение первого часа описывается линейной функцией. Угол наклона прямой, характеризующий скорость их растворения, лежит в интервале 10°–36°.

**Выводы.** Установлено, что различие в значениях молекулярной массы образцов гипромеллозы фталата существенно влияет на скорость их растворения. Показано, что зависимость скорости растворения гипромеллозы фталата от его молекулярной массы носит нелинейный характер. Обоснована необходимость проведения дальнейших исследований для вывода корреляционного уравнения зависимости скорости растворения гипромеллозы фталата как функции от двух переменных (молекулярной массы и доли фталатных групп полимера).

**Ключевые слова:** гипромеллозы фталат; средняя молекулярная масса; метод диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР; профиль растворения

**Для цитирования:** Моисеев С.В., Кузьмина Н.Е., Северинова Е.Ю., Бунятян Н.Д., Евтеев В.А. Изучение методами спектроскопии ЯМР влияния молекулярной массы гипромеллозы фталата на его растворимость. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(3):385–393. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-541>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022400083-1).

**Конфликт интересов.** Н.Е. Кузьмина, Н.Д. Бунятян — члены редакционной коллегии журнала «Ведомости НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» с 2021 и 2011 года соответственно. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Sergey V. Moiseev<sup>1</sup>   
Natalia E. Kuz'mina<sup>1</sup>   
Elena Yu. Severinova<sup>1</sup>   
Natalia D. Bunyatyan<sup>1,2</sup>   
Vladimir A. Evteev<sup>1</sup> 

## NMR Spectroscopy Study of the Effect of the Molecular Mass of Hypromellose Phthalate on Its Solubility

<sup>1</sup> Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

✉ Sergey V. Moiseev; [MoiseevSV@expmed.ru](mailto:MoiseevSV@expmed.ru)

### ABSTRACT

**Scientific relevance.** Hypromellose phthalate is used in enteric coatings for oral medicinal products. The proportion of phthalate groups in the polymer is standardised because it has a significant effect on solubility. Whereas, the molecular mass of hypromellose phthalate is not controlled, and its impact on solubility in media with different pH values is understudied.

**Aim.** The study aimed to employ NMR spectroscopy to investigate the effect the molecular mass of hypromellose phthalate may have on the dissolution kinetics at the pH value declared by the polymer manufacturer.

**Materials and methods.** The study analysed hypromellose phthalate isolated from proton-pump inhibitor enteric coatings and the hypromellose phthalate reference standard. The molecular mass of the polymer was estimated by diffusion-ordered NMR spectroscopy (DOSY) with polyethylene glycols of known molecular masses for calibration. The authors studied the dissolution profiles of hypromellose phthalates of different molecular masses using <sup>1</sup>H NMR spectra.

**Results.** The authors developed a procedure for estimating the average molecular mass of hypromellose phthalate by DOSY. The procedure showed variations in the molecular mass of the polymer in the test samples; the molecular mass scatter amounted to 10 kDa. The dissolution profile of the test samples in an aqueous buffer solution (pH 5.59) was described by a linear function during the first hour. The slope characterising the dissolution rate varied from 10° to 36°.

**Conclusions.** The variation in the molecular mass of hypromellose phthalate significantly affects the dissolution rate of the test samples. The function of the dissolution rate against the molecular mass of hypromellose phthalate is non-linear. The article provides a compelling reason for further research to derive a correlation equation for the dissolution rate of hypromellose phthalate as a function of two variables (molecular mass and proportion of phthalate groups in the polymer).

**Key words:** hypromellose phthalate; average molecular mass; diffusion-ordered NMR spectroscopy; dissolution profile

**For citation:** Moiseev S.V., Kuz'mina N.E., Severinova E.Yu., Bunyatyan N.D., Evteev V.A. NMR spectroscopy study of the effect of the molecular mass of hypromellose phthalate on its solubility. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(3):385–393. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-541>

**Funding.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022400083-1).

**Conflict of interest.** Natalia E. Kuz'mina and Natalia D. Bunyatyan have been members of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* since 2021 and 2011, respectively. The other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## Введение

Одним из факторов обеспечения эффективности лекарственных средств является правильное их применение. Известно, что перорально принятые препараты, проходя по желудочно-кишечному тракту, в желудке подвергаются значительному воздействию кислой среды и могут инактивироваться, не доходя до тонкого кишечника, где они всасываются в кровоток [1]. Для контролируемого высвобождения активного вещества в тонком кишечнике перорально принимаемые препараты покрывают кишечнорастворимыми (или желудочно-резистентными) оболочками на основе полимеров, устойчивых в кислой среде, но растворимых в среде с высоким значением pH. Примером такого полимера является гипромеллозы фталат (общепринятая аббревиатура НРМСП) [2]. НРМСП представляет собой сложный эфир монофталевой кислоты и гидроксипропилметилцеллюлозы (гипромеллозы) нестехиометрического строения. Разные коммерческие марки НРМСП (НР-50, НР-55 и НР-55S) различаются степенью замещения гипромеллозы и физическими свойствами, включая растворимость. Например, НР-55 и НР-55S растворяются в водных буферных растворах при pH 5,5; НР-50 – при pH 5,0.

Известно, что растворимость НРМСП существенно зависит от доли фталатных групп в полимере, которая составляет 27–35% в марках НР-55, НР-55S и 21–27% в марке НР-50<sup>1</sup>. Как следствие, содержание фталатных групп в НРМСП подлежит контролю при его экспертизе качества (норма 21,0–35,0%<sup>2</sup> [3]). Средняя молекулярная масса (ММ) образцов НРМСП не контролируется и ее влияние на растворимость данного полимера изучено слабо. При этом ММ полимера является ключевым параметром, влияющим на его физические свойства, включая растворимость.

Величину ММ образцов НРМСП, как правило, определяют методом эксклюзионной гелепроникающей хроматографии (ГПХ)<sup>3</sup> [3, 4]. Ранее нами была показана возможность точного определения ММ природных и модифицированных полисахаридов методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР на протонных ядрах (<sup>1</sup>H-DOSY) [5]. Преимуществом метода ЯМР является возможность оценить не только ММ полимера,

но и его нестехиометрический состав и профиль растворения.

Цель работы – изучение методами спектроскопии ЯМР влияния молекулярной массы гипромеллозы фталата на кинетику растворения.

## Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали референсный стандартный образец НРМСП Европейской фармакопеи (образец I) и образцы НРМСП, выделенные из кишечнорастворимых оболочек препаратов группы ингибиторов протонной помпы: таблеток рабепразола (образцы II, III и IV) и капсул омепразола (образец V) различных производителей.

Для построения калибровочной кривой и вывода корреляционного уравнения зависимости ММ от значения коэффициента самодиффузии (*D*) полимера использовали образцы полиэтиленгликолей (ПЭГ): ПЭГ200 (ММ 200 Да, Fisher Chemical, кат. № P/3675/08), ПЭГ400 (ММ 400 Да, Sigma-Aldrich, кат. № 8.07485), ПЭГ600 (ММ 600 Да, Acros Organics, кат. № 192240010), ПЭГ4000 (ММ 4000 Да, Merck, кат. № 1.09727) и ПЭГ6000 (ММ 6000 Да, Merck, кат. № 8.07491).

К отделенной от активного вещества оболочке в количестве 30 мг (точная навеска необязательна) добавляли 1,5 мл смеси метанола (99,9%, Merck) и хлороформа (99,3%, ЭКОС-1) в соотношении 1:1 (об./об.) и перемешивали на мешалке Vortex (Vortex 1 S000, IKA® Werke GmbH & Co.KG, Германия) до получения однородной суспензии. Затем суспензию центрифугировали в течение 10 мин с помощью центрифуги Microfuge 20R (Beckman Coulter) при 10000 об/мин. Отбирали надосадочную жидкость и оставляли ее при комнатной температуре в течение суток до полного испарения растворителя. Навеску осадка в количестве 6 мг (точная навеска необязательна) растворяли в 0,5 мл смеси CDCl<sub>3</sub> (Cambridge Isotope Laboratories, кат. № DLM-7-PK) и CD<sub>3</sub>OD (Acros Organics, кат. № A0318541) в соотношении 1:1 (об./об.).

Калибровочные растворы ПЭГ готовили, растворяя 6 мг ПЭГ в 0,5 мл смеси CDCl<sub>3</sub> и CD<sub>3</sub>OD (1:1 об./об.).

Регистрацию спектров <sup>1</sup>H-DOSY (Diffusion-Ordered Spectroscopy, диффузионно-упорядоченная

<sup>1</sup> USP Hypromellose Phthalate (HPMCP). Enteric coating material. Shin-Etsu Chemical Co. Ltd; 2002. <http://www.metolose.ru/files/hpmcp.pdf>

<sup>2</sup> Monograph Hypromellose Phthalate. USP43–NF38 – 5828. [https://doi.org/10.31003/USPNE\\_M39303\\_06\\_01](https://doi.org/10.31003/USPNE_M39303_06_01)

<sup>3</sup> Там же.

спектроскопия ЯМР) проводили на ЯМР-спектрометре Agilent DD2 NMR System 600, используя импульсную последовательность DBPPSTE-CC (Bipolar Pulse Pair Stimulated Echo with Convection Compensation). Параметры DOSY эксперимента: угол поворота намагниченности  $45^\circ$ , время задержки между импульсными последовательностями – 2 с, число накоплений сигнала спада свободной индукции – 16, последовательное 15-шаговое линейное увеличение амплитуды импульса градиента магнитного поля в интервале от 1,8 до 51,5 Гс/см при фиксированных значениях времени диффузии (285 мс) и длительности градиентного импульса (2 мс), число точек аналого-цифрового преобразования – 16 К, экспоненциальный коэффициент аподизации по Лоренцу – 3 Гц. Математическую обработку результатов эксперимента осуществляли методом DISCRETE (discrete sum of exponential decays)<sup>4</sup> [6], в рамках которого каждую кривую диффузионного затухания трехкомпонентной смеси метанол–хлороформ–НПМСП представляли суммой трех экспоненциальных составляющих.

Кинетику растворения изучали, используя водные буферные растворы НПМСП. Буферный раствор готовили, добавляя  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (BioChemica, for analysis, ACS) к  $\text{D}_2\text{O}$  (Cambridge Isotope Laboratories, кат. № 11D-693) со следовыми количествами 3-(триметилсилил)-пропионата натрия-D4 (ТСП) (Cambridge Isotope Laboratories, кат. № I-18625) до значений pH 5,59. Данное значение было выбрано в соответствии с пороговым значением pH, при котором начинается растворение НПМСП коммерческой марки НР-55. Именно эта марка была указана производителем препарата (II) в качестве основного компонента оболочки в инструкции к применению. Для других объектов исследования информация о коммерческой марке НПМСП отсутствовала.

Анализировали увеличение в спектрах  $^1\text{H}$  интегральных интенсивностей фталатных групп полимера относительно интегральной интенсивности внутреннего стандарта – ТСП, которую принимали за 100. Параметры  $^1\text{H}$  ЯМР эксперимента: температура –  $37^\circ\text{C}$ , время задержки между импульсными последовательностями – 5 с, количество накоплений спада свободной индукции – 32, число точек аналого-цифрового преобразования – 64 К, экспоненциальный коэффициент аподизации по Лоренцу – 3 Гц, дополнение нулями – 32 К, коррекция базовой линии спектра, настройка фазы и интегрирование в автоматическом режиме, калибровка шкалы химических сдвигов ( $\delta$ ) под сигнал ТСП.

<sup>4</sup> <http://s-provencher.com/>

При выводе корреляционного уравнения использовали программное обеспечение MS Excel 2007.

### Результаты и обсуждение

Метод DOSY, как и ГПХ, является косвенным методом определения ММ полимеров. Он требует калибровки, при которой измеряемая величина коэффициента самодиффузии ( $D$ ) градуируется по известным массам однотипных полимеров. Ранее мы выбрали универсальные параметры  $^1\text{H}$ -DOSY эксперимента, обеспечивающие хорошее разрешение по величине  $D$  полисахаридов с близкими значениями ММ. С их помощью были выведены корреляционные уравнения зависимости ММ от значений  $D$  для отдельных классов водорастворимых природных и модифицированных полисахаридов: пуллуланов, декстранов и гидроксиэтилкрахмалов [5]. Применение этих уравнений к водонерастворимым образцам НПМСП невозможно, так как замена растворителя влияет на специфику невалентных взаимодействий его молекул друг с другом и с макромолекулами полимера. Как следствие, меняется вязкость раствора и подвижность макромолекулы полимера, что отражается на значении  $D$ . Важно отметить отсутствие стандартных образцов НПМСП, аттестованных по величине ММ. Как следствие, оценка ММ этих полимеров носит ориентировочный характер, так как при построении калибровочной кривой используют другие полимеры (пуллуланы, ПЭГ, полистиролы). В *таблице 1* представлены литературные данные о значениях ММ коммерчески доступных марок НПМСП производителя Shin-Etsu Chemical Co. Ltd, полученных методом ГПХ.

Результаты измерения существенно различаются в зависимости от способа усреднения ММ, растворителя и химической природы полимера, используемого при построении калибровочной кривой (*табл. 1*). При этом не наблюдается четкой тенденции изменения величины ММ в ряду НР-50 – НР-55 – НР-55S.

В нашем исследовании мы использовали для калибровки растворы ПЭГ с известной ММ в смеси дейтерированных метанола и хлороформа (1:1 об./об.). Предварительно нами было установлено, что в данной смеси растворителей образцы НПМСП растворяются лучше, чем в индивидуальных дейтерированных растворителях (хлороформе, хлористом метиле, метаноле). Для нивелирования ошибок, связанных с изменением вязкости при переходе от растворителя к раствору, проводили корректировку экспериментально определенных величин  $D$ .

**Таблица 1.** Значения средневесовых ( $MM_w$ ) и среднечисловых ( $MM_n$ ) молекулярных масс коммерческих марок гипромеллозы фталата, определенные методом гелепроникающей хроматографии

**Table 1.** Weight-average ( $MM_w$ ) and number-average ( $MM_n$ ) molecular mass of commercial grades of hypromellose phthalate measured by gel-permeation chromatography

Марка Grade	Растворитель Solvent	Образцы для калибровки Calibration samples	$MM_w$ , кДа (kDa)	$MM_n$ , кДа (kDa)
HP-50	ацетатно-хлоридный буфер (pH 5,61) : N,N-диметилформамид (9:1 об./об.) <i>acetate-chloride buffer (pH 5.61) : N,N-dimethylformamide (9:1 v/v)</i>	пуллуланы <i>pullulans</i>	37,86 [3]	14,7 [3]
	метанол : хлористый метилен (1:1 мас./мас.) <i>methanol : dichloromethane (1:1 w/w)</i>	полистиролы <i>polystyrenes</i>	78 <sup>5</sup>	24 <sup>6</sup>
HP-55	ацетатно-хлоридный буфер (pH 5,61) : N,N-диметилформамид (9:1 об./об.) <i>acetate-chloride buffer (pH 5.61) : N,N-dimethylformamide (9:1 v/v)</i>	пуллуланы <i>pullulans</i>	45,58 [3]	19,06 [3]
	диоксан : вода (9:1 об./об.) <i>dioxane : water (9:1 v/v)</i>	полиэтиленгликоль <i>polyethylene glycol</i>	45,0 [4]	12,86* [4]
		полистиролы <i>polystyrenes</i>	71,0 [4]	20,23* [4]
	метанол : хлористый метилен (1:1 мас./мас.) <i>methanol : dichloromethane (1:1 w/w)</i>	полистиролы <i>polystyrenes</i>	84 <sup>7</sup>	21 <sup>8</sup>
HP-55S	ацетатно-хлоридный буфер (pH 5,61) : N,N-диметилформамид (9:1 об./об.) <i>acetate-chloride buffer (pH 5.61) : N,N-dimethylformamide (9:1 v/v)</i>	пуллуланы <i>pullulans</i>	60,20 [3]	25,74 [3]
	диоксан : вода (9:1 об./об.) <i>dioxane : water (9:1 v/v)</i>	полиэтиленгликоль <i>polyethylene glycol</i>	76,2 [4]	21,76* [4]
		полистиролы <i>polystyrenes</i>	20,0 [4]	34,29* [4]
	метанол : хлористый метилен (1:1 мас./мас.) <i>methanol : dichloromethane (1:1 w/w)</i>	полистиролы <i>polystyrenes</i>	132 <sup>9</sup>	36 <sup>10</sup>

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

\*  $MM_n$  рассчитана из данных  $MM_w$  и  $MM_w/MM_n$  первоисточника.

\*  $MM_n$  is calculated using the data of  $MM_w$  and  $MM_w/MM_n$  from the reference.

Коэффициент корреляции ( $K_{кор}$ ) рассчитывали как отношение значения  $D$  остаточной воды в растворителе (в нашем случае  $19,17 \times 10^{-10}$  м<sup>2</sup>/с) к значению  $D$  остаточной воды в растворе с анализируемым образцом [7, 8]. Характеристики растворов ПЭГ, используемые при построении калибровочной кривой и вывода корреляционного уравнения зависимости ММ от  $D$ , представлены в таблице 2.

Регрессионная зависимость представленных в таблице 2 величин ММ от скорректированных значений  $D$  описывается степенной функцией, логарифмическое преобразование которой позволяет получить линейное уравнение (рис. 1), использовавшееся для определения величин ММ анализируемых образцов I–V.

Следует отметить, что в отличие от растворов ПЭГ, для которых на диаграмме распределения  $D$  наблюдается один пик, растворы испытуемых образцов I–V характеризуются набором пиков с различными значениями  $D$  в пике  $D_p$ . Одна из причин этого явления – различная локальная подвижность сегментов полимерной цепи и боковых заместителей в НРМСР. Поэтому для определения ММ мы использовали средний коэффициент самодиффузии ( $D_s$ ), который определяли по формуле (1) [5, 9]:

$$D_s = \sum p_i \times D_i, \quad (1)$$

где  $D_i$  – величина  $D$  в пике  $i$  на диаграмме распределения  $D$  в образце полимера;  $p_i$  – относительная доля резонирующих ядер в образце, характеризующихся значением  $D_i$ , определенная

<sup>5</sup> USP Hypromellose Phthalate (HPMCP). Enteric coating material. Shin-Etsu Chemical Co. Ltd; 2002. <http://www.metolose.ru/files/hpmcp.pdf>

<sup>6</sup> Там же.

<sup>7</sup> Там же.

<sup>8</sup> Там же.

<sup>9</sup> Там же.

<sup>10</sup> Там же.

**Таблица 2.** Коэффициенты самодиффузии компонентов калибровочных растворов полиэтиленгликоля

**Table 2.** Self-diffusion coefficients of the components of polyethylene glycol calibration solutions

ПЭГ	ММ, Да	lg ММ	$D_{\text{ПЭГ}} \times 10^{10}, \text{ м}^2/\text{с}$	$D_{\text{вода}} \times 10^{10}, \text{ м}^2/\text{с}$	$K_{\text{кор}}$	$D_{\text{ПЭГ}}^{\text{кор}} \times 10^{10}, \text{ м}^2/\text{с}$	lg $D_{\text{ПЭГ}}^{\text{кор}}$
ПЭГ200	200	2,3010	8,65	18,86	1,0164	8,7922	-9,0559
ПЭГ400	400	2,6021	6,17	20,13	0,9523	5,8758	-9,2309
ПЭГ600	600	2,7782	5,13	19,78	0,9692	4,9718	-9,3035
ПЭГ4000	4000	3,6021	1,83	20,41	0,9392	1,7188	-9,7648
ПЭГ6000	6000	3,7782	1,41	19,25	0,9958	1,4041	-9,8526

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

**Примечание.** ММ – молекулярная масса; ПЭГ – полиэтиленгликоль;  $D_{\text{ПЭГ}}$  – коэффициент самодиффузии ПЭГ;  $D_{\text{вода}}$  – коэффициент самодиффузии воды;  $D_{\text{ПЭГ}}^{\text{кор}}$  – скорректированный коэффициент самодиффузии ПЭГ;  $K_{\text{кор}}$  – коэффициент корреляции.

**Note.** ММ, molecular mass; ПЭГ, polyethylene glycol;  $D_{\text{ПЭГ}}$ , self-diffusion coefficient of PEG;  $D_{\text{вода}}$ , self-diffusion coefficient of water;  $D_{\text{ПЭГ}}^{\text{кор}}$ , corrected self-diffusion coefficient of polyethylene glycol;  $K_{\text{кор}}$ , correlation coefficient; Да, Da;  $\text{м}^2/\text{с}$ ,  $\text{m}^2/\text{s}$ .

**Таблица 3.** Значения коэффициентов самодиффузии и соответствующие им значения молекулярных масс образцов гипромеллозы фталата

**Table 3.** Self-diffusion coefficients and corresponding molecular mass values of hypromellose phthalate samples

Образец Sample	$D_s \times 10^{10}, \text{ м}^2/\text{с}$	$D_{\text{вода}} \times 10^{10}, \text{ м}^2/\text{с}$	$K_{\text{кор}}$	$D_s^{\text{кор}} \times 10^{10}, \text{ м}^2/\text{с}$	ММ, кДа
I	0,6701	17,67	1,0849	0,7270	20,05
II	0,7122	18,32	1,0464	0,7452	19,56
III	0,7488	18,09	1,0597	0,7935	17,06
IV	0,7145	20,88	0,9181	0,6560	24,23
V	0,7722	17,03	1,1257	0,8693	14,41

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

**Примечание.**  $D_s$  – средний коэффициент самодиффузии испытуемых образцов I–V;  $D_s^{\text{кор}}$  – скорректированный коэффициент самодиффузии испытуемых образцов I–V;  $D_{\text{вода}}$  – коэффициент самодиффузии воды;  $K_{\text{кор}}$  – коэффициент корреляции.

**Note.**  $D_s$ , mean self-diffusion coefficient of test samples I–V;  $D_s^{\text{кор}}$ , corrected self-diffusion coefficient of test samples I–V;  $D_{\text{вода}}$ , self-diffusion coefficient of water;  $K_{\text{кор}}$ , correlation coefficient; кДа, kDa;  $\text{м}^2/\text{с}$ ,  $\text{m}^2/\text{s}$ .

путем измерения интегральной интенсивности пиков на диаграмме распределения  $D$ .

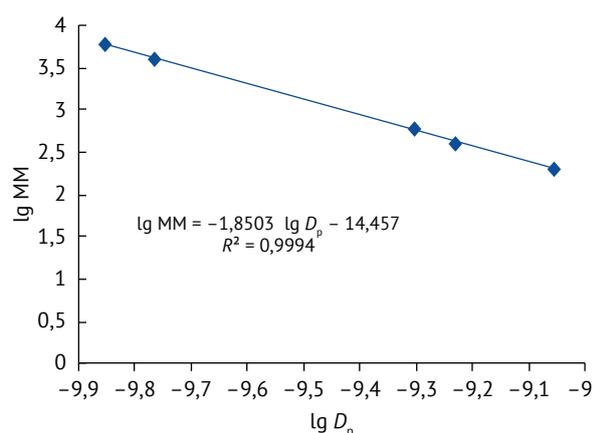


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / Figure is prepared by the authors using their own data

**Рис. 1.** Зависимость коэффициента самодиффузии ( $D_p$ ) от молекулярной массы (ММ) образцов полиэтиленгликоля

**Fig. 1.** Self-diffusion coefficients ( $D_p$ ) as a function of the molecular mass (MM) of polyethylene glycol samples

Рассчитанные значения  $D_s$  образцов I–V далее корректировали аналогично образцам ПЭГ. Диффузионные характеристики испытуемых образцов НРМСР и соответствующие им значения ММ представлены в таблице 3.

Значение ММ стандартного образца НРМСР (I), полученное методом DOSY, близко к значению среднечисловой  $M_n$ , заявленному производителем НР-55 (21 кДа) с учетом различия в полимерах, применяемых для построения калибровочной кривой (ПЭГ и полистиролы соответственно) (табл. 3). Что касается НРМСР из оболочек препаратов протонной помпы, то максимальное соответствие значению ММ стандартного образца наблюдается у образца II, наибольшее отклонение от стандарта – у образца V. Наблюдаемый разброс в значениях молекулярных масс образцов НРМСР, входящих в состав кишечнорастворимых оболочек препаратов – ингибиторов протонной помпы, составил 10 кДа. Следует отметить, что правильность методики определения ММ полисахаридов методом DOSY в диапазоне

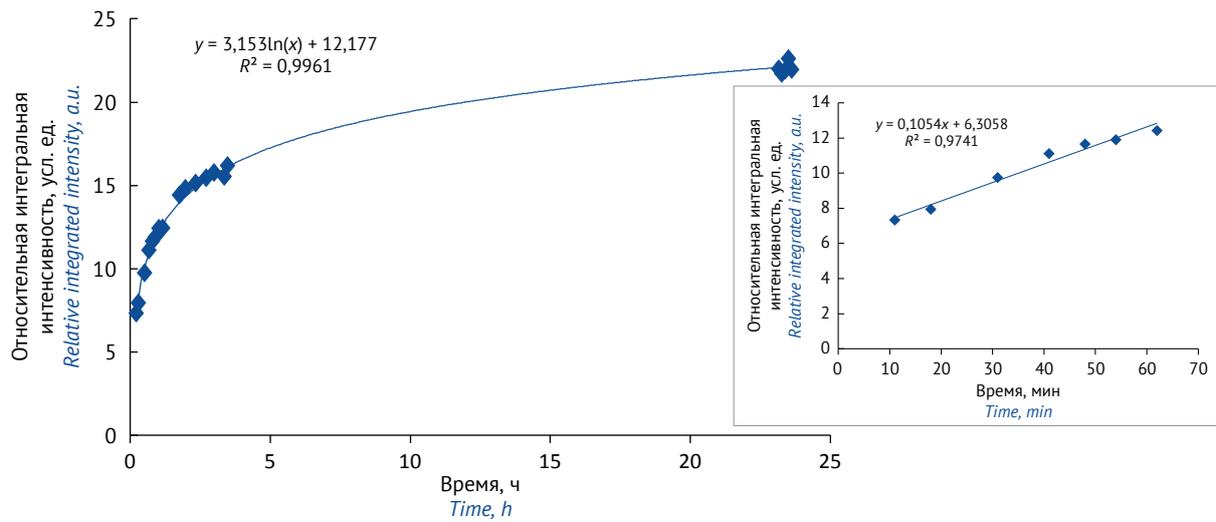


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / Figure is prepared by the authors using their own data

**Рис. 2.** Профиль растворения образца гипромеллозы фталата I, ММ 20,05 кДа. На вставке – временной диапазон 10–60 мин

**Fig. 2.** Dissolution profile of hypromellose phthalate sample I, MM 20.05 kDa. The inset shows the time range of 10–60 min

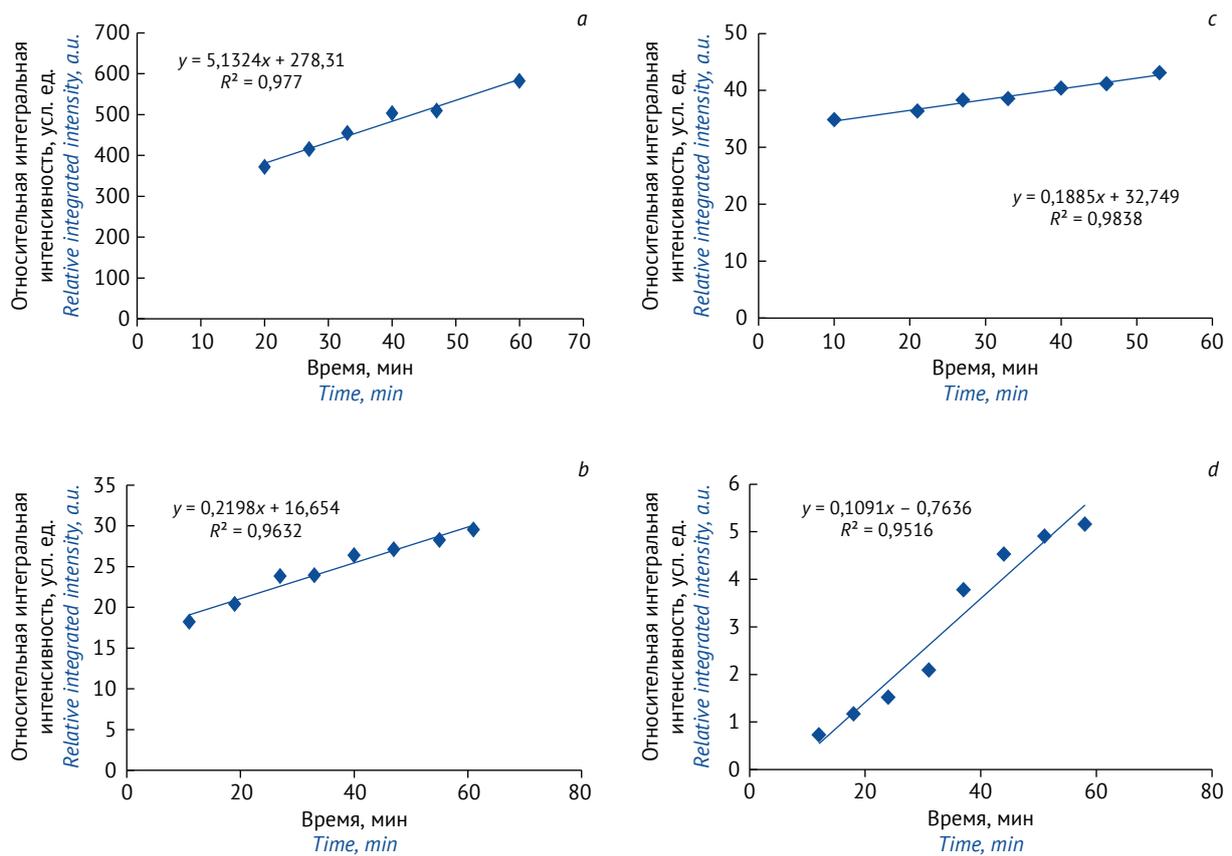


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / Figure is prepared by the authors using their own data

**Рис. 3.** Профиль растворения образцов гипромеллозы фталата: II – ММ 19,56 кДа (а); III – ММ 17,06 кДа (б); IV – ММ 24,23 кДа (с); V – ММ 14,41 кДа (д) во временном диапазоне 10–60 мин

**Fig. 3.** Dissolution profiles of hypromellose phthalate samples: II, MM 19.56 kDa (a); III, MM 17.06 kDa (b); IV, MM 24.23 kDa (c); and V, MM 14.41 kDa (d) in the time range of 10–60 min

применения 1–80 кДа [10] соответствует критериям приемлемости, описанным в руководствах по валидации аналитических методик<sup>11</sup>. Ее систематическая погрешность (0,14%) не превышает доверительный интервал (2,26%), который включает в себя 100% значение отношения опорных и определенных величин ММ. Как следствие, систематические ошибки в определении молекулярных масс образцов НРМСР различных производителей не оказывают сколько-нибудь значимого влияния на конечный результат.

Для понимания значимости разницы в молекулярных массах НРМСР в 10 кДа был проведен сравнительный анализ кинетики растворения в водных буферных растворах при значениях рН 5,59. Профиль растворения стандартного образца НРМСР (I) во временном диапазоне 0,2–24 ч с момента растворения описывается уравнением логарифмической функции, однако на начальной стадии растворения (не более 60 мин) кинетику растворения НРМСР можно описать линейной функцией, у которой угол наклона прямой характеризует скорость растворения (рис. 2).

Углы наклона прямых, описывающих профиль растворения НРМСР в течение первого часа, равны 16°, 16°, 15°, 10° и 36° для образцов I–V соответственно (рис. 2, 3). Наибольшей скоростью растворения характеризуется образец V с наименьшей ММ (14,41 кДа) (угол наклона 36°) (рис. 3). Напротив, кривая, описывающая профиль растворения образца с максимальной ММ (24,23 кДа) (IV), характеризуется минимальным

углом наклона (10°). Следовательно, увеличение ММ на 10 кДа замедляет скорость растворения более чем в 3,5 раза. Зависимость скорости растворения от значений ММ не является линейной: образцы I и II имеют близкие молекулярные массы и схожие профили растворения, в то время как у образца III меньше молекулярная масса и меньше скорость растворения. Очевидно, необходимо учитывать влияние на скорость растворения доли фталатных групп в полимере.

### Заключение

Разработана методика оценки средней молекулярной массы гипромеллозы фталата методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР. Результаты измерения с помощью данной методики сопоставимы с результатами измерения методом гелепроникающей хроматографии. Гипромеллозы фталат, входящий в состав кишечнорастворимых оболочек препаратов группы протонной помпы, различается по величине молекулярной массы полимера, наблюдаемый разброс в величинах молекулярных масс составил 10 кДа. Изменение молекулярной массы гипромеллозы фталата существенно влияет на скорость его растворения. Зависимость скорости растворения гипромеллозы фталата от его молекулярной массы носит нелинейный характер.

Следует отметить, что для вывода корреляционного уравнения скорости растворения гипромеллозы фталата как функции от двух переменных (молекулярной массы и доли фталатных групп полимера) необходимы дальнейшие исследования.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Перцев ИМ, Зупанец ИА, Дегтярева ТВ. Правильное применение лекарств как фактор обеспечения их эффективности. *Провизор*. 2001;(6):19–22. Pertsev IM, Zupanets IA, Degtyareva TV. Correct use of medicines as a factor in ensuring their effectiveness. *Pharmacist*. 2001;(6):19–22 (In Russ.).
2. Зауер А. Применение производных целлюлозы в технологии покрытия таблеток. *Фармацевтическая отрасль*. 2018;(5):76–8. Sauer A. Application of cellulose derivatives in tablet coating technology. *Pharmaceutical Industry*. 2018;(5):76–8 (In Russ.).
3. Fukasawa M, Obara S. Molecular weight determination of hypromellose phthalate (HPMCP) using size exclusion chromatography with a multi-angle laser light scattering detector. *Chem Pharm Bull*. 2003;51(11):1304–1306. <https://doi.org/10.1248/cpb.51.1304>
4. Kato T, Tokuya T, Takahashi A. Measurements of molecular weight and molecular weight distribution for water-soluble cellulose derivatives used in the film coating of tablets. *Kobunshi Ronbunshu*. 1982;39(4):293–8. <https://doi.org/10.1295/koron.39.293>
5. Кузьмина НЕ, Моисеев СВ, Северинова ЕЮ, Лутцева АИ. Применение метода диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР для анализа полисахаридов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(1):24–40. Kuz'mina NE, Moiseev SV, Severinova EYu, Lutseva AI. Diffusion-ordered NMR spectroscopy application for analysis of polysaccharides. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evalua-*

<sup>11</sup> Юргель НВ, ред. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств (методические рекомендации). М.: Спорт и культура – 2000; 2007. Береговых ВВ, ред. Валидация аналитических методик для производителей лекарств. Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств. М.: Литера; 2008.

- tion. 2022;2(1):24–40 (In Russ.).  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-24-40>
6. Provencher SW. An eigenfunction expansion method for the analysis of exponential decay curves. *J Chem Phys.* 1976;64(7):2772–7.  
<https://doi.org/10.1063/1.432601>
7. Bakkour Y, Vermeersch G, Morcellet M, Boschini F, Martel B, Azaroual N. Formation of cyclodextrin inclusion complexes with doxycyclin-hyclate: NMR investigation of their characterisation and stability. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* 2006;54(1–2):109–14.  
<https://doi.org/10.1007/s10847-005-5108-7>
8. Danielsson J, Jarvet J, Damberg P, Gräslund A. Two-site binding of  $\beta$ -cyclodextrin to the Alzheimer A $\beta$ (1–40) peptide measured with combined PFG-NMR diffusion and induced chemical shifts. *Biochemistry.* 2004;43(20):6261–9.  
<https://doi.org/10.1021/bi036254p>
9. Маклаков АИ, Скирда ВД, Фаткуллин НФ. Само-диффузия в растворах и расплавах. Казань: Изд. Казанского государственного университета; 1987. Maklakov AI, Skirda VD, Fatkullin NF. *Self-diffusion in polymer solutions and melts.* Kazan: Kazan State University Publ.; 1987 (In Russ.).
10. Моисеев СВ, Кузьмина НЕ, Крылов ВИ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Валидация методики определения средней молекулярной массы декстранов методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии. *Химико-фармацевтический журнал.* 2017;51(9):60–3.  
<https://doi.org/10.30906/0023-1134-2017-51-9-60-63>
- Moiseev SV, Kuz'mina NE, Krylov VI, Yashkir VA, Merkulov VA. Validation of a method of measuring mean molecular weight of dextrans by diffusion-ordered spectroscopy. *Pharm Chem J.* 2017;51(9):829–32.  
<https://doi.org/10.1007/s11094-017-1701-5>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: С.В. Моисеев – идея, подбор и анализ литературы, проведение экспериментальных исследований методом ЯМР, анализ, систематизация и обобщение экспериментальных данных, интерпретация результатов исследования, подготовка и оформление рукописи; Н.Е. Кузьмина – идея, планирование исследования, анализ, систематизация и обобщение экспериментальных данных, интерпретация результатов исследования, редактирование текста рукописи; Е.Ю. Северинова – пробоподготовка образцов, поиск литературы; Н.Д. Бунятян – вклад в концепцию, критический пересмотр текста рукописи; В.А. Евтеев – пробоподготовка образцов, подбор и анализ литературы.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Sergey V. Moiseev* elaborated the study idea; selected and analysed literature; conducted NMR experiments; analysed, collated, and summarised experimental data; interpreted the study results; drafted and formatted the manuscript. *Natalia E. Kuz'mina* elaborated the study idea; planned the study; analysed, collated, and summarised experimental data; interpreted the study results; edited the manuscript. *Elena Yu. Severinova* prepared samples, selected and analysed literature. *Natalia D. Bunyatyan* contributed to the study concept and critically revised the manuscript. *Vladimir A. Evteev* prepared samples and searched literature.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Моисеев Сергей Владимирович**, канд. хим. наук, доцент

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1310-4477>  
[MoiseevSV@expmed.ru](mailto:MoiseevSV@expmed.ru)

**Кузьмина Наталия Евгеньевна**, д-р хим. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>  
[KuzminaN@expmed.ru](mailto:KuzminaN@expmed.ru)

**Северинова Елена Юрьевна**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5695-8048>  
[Severinova@expmed.ru](mailto:Severinova@expmed.ru)

**Бунятян Наталья Дмитриевна**, д-р фарм. наук, профессор  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>  
[Bunyatyan@expmed.ru](mailto:Bunyatyan@expmed.ru)

**Евтеев Владимир Александрович**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6150-5796>  
[Evteev@expmed.ru](mailto:Evteev@expmed.ru)

Поступила 01.03.2023

После доработки 04.04.2023

Принята к публикации 22.05.2023

Online first 07.07.2023

**Sergey V. Moiseev**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1310-4477>  
[MoiseevSV@expmed.ru](mailto:MoiseevSV@expmed.ru)

**Natalia E. Kuz'mina**, Dr. Sci. (Chem.)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>  
[KuzminaN@expmed.ru](mailto:KuzminaN@expmed.ru)

**Elena Yu. Severinova**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5695-8048>  
[Severinova@expmed.ru](mailto:Severinova@expmed.ru)

**Natalia D. Bunyatyan**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>  
[Bunyatyan@expmed.ru](mailto:Bunyatyan@expmed.ru)

**Vladimir A. Evteev**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6150-5796>  
[Evteev@expmed.ru](mailto:Evteev@expmed.ru)

Received 1 March 2023

Revised 4 April 2023

Accepted 22 May 2023

Online first 7 July 2023