

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Волгоградский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Гиёсзода Асомуддин Шамсуддин

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
СОЗДАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА
БАЗЕ ФИТОКОМПОЗИЦИЙ АНТИДИАБЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ**

3.4.1. – Промышленная фармация и технология получения лекарств

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
доктора фармацевтических наук

Научный консультант:
доктор фармацевтических наук, профессор
Степанова Элеонора Федоровна

Пятигорск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ФИТОПРЕПАРАТОВ АНТИДИАБЕТИЧЕСКОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ – (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	13
1.1 Комбинированные лекарственные формы из различных фармакотерапевтических групп.....	13
1.2 Лекарственные растения антидиабетического действия, произрастающие в Таджикистане и сборы на их основе	16
1.3 Современные виды доставки лекарственных средств 1-го поколения – микрокапсул. Таблетки с микрокапсулами	19
1.4 Инновационные лекарственные формы: спансулы	26
1.5. Современная лекарственная форма – саше-гранулы.....	30
Заключение по обзору литературы.....	34
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	36
2.1 Материалы исследования	36
2.2 Методы исследования.....	37
2.3 Дизайн исследования	44
ГЛАВА 3 РАЗРАБОТКА И ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ОПТИМАЛЬНОЙ ФИТОКОМПОЗИЦИИ	47
3.1 Характеристика лекарственных растительных объектов	48
3.1.1 Характеристика солодки: химический состав, фармакологическая активность	48
3.1.2 Характеристика галеги лекарственной: химический состав, фармакологическая активность	51
3.1.3 Характеристика крапивы двудомной: химический состав, фармакологическая активность	53
3.1.4 Характеристика мяты перечной: химический состав, фармакологическая активность	57

3.1.5 Характеристика шиповника: химический состав, фармакологическая активность	60
3.1.6 Характеристика липы: химический состав, фармакологическая активность	64
3.2 Составление фитокомпозиции и её фармакологическое обоснование	66
3.2.1 Изучение антидиабетической активности фитокомпозиции <i>in vivo</i>	66
3.2.2 Прогнозирование антидиабетической активности методом молекулярного моделирования.....	72
Заключение по главе 3	77
ГЛАВА 4 РАЗРАБОТКА ОРИГИНАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОКАПСУЛ	78
4.1 Разработка оптимальной технологии получения микрокапсул	79
4.1.1 Разработка состава и оптимальной технологии получения микрокапсулированных форм фитосубстанции и гликлазида с оболочкой из желатина	79
4.1.2 Разработка оптимальной технологии получения микрокапсулированной формы фитосубстанции с оболочкой из полиэтиленгликоля.....	89
4.1.3 Разработка оптимальной технологии получения микрокапсулированной формы гликлазида с оболочкой из полиэтиленгликоля.....	97
4.2 Биофармацевтические исследования микрокапсул гликлазида (<i>in vitro</i>)	103
4.3 Технологические свойства микрокапсул	105
4.4 Фармакологические исследования микрокапсул.....	107
4.4.1 Фармакологические исследования желатиновых микрокапсул.....	107
4.4.2 Фармакологические исследования микрокапсул с оболочкой из полиэтиленгликоля.....	112
Заключение по главе 4	118
ГЛАВА 5 РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ – СПАНСУЛЫ.....	119
5.1 Общая характеристика спансулы как лекарственной формы	119
5.2 Выбор материала капсулы.....	124

5.3 Разработка состава и технологии спансул.....	131
5.3.1. Обоснование выбора вспомогательных веществ при разработке спансулы.....	131
5.3.2 Разработка технологии получения спансул.....	136
5.4 Стандартизация спансулы	140
5.5 Фармакологические исследования разработанного состава спансул.....	147
5.6 Изучение стабильности и сроков годности спансулы.....	152
Заключение по главе 5	157
ГЛАВА 6 РАЗРАБОТКА ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ТАБЛЕТОК, СОДЕРЖАЩИХ ГЛИКЛАЗИД И ФИТОСУБСТАНЦИЮ	159
6.1. Выбор и фармакотехнологическое обоснование состава вспомогательных веществ для получения пролонгированных таблеток гликлазида и фитосубстанции.....	160
6.2 Разработка технологии получения пролонгированных таблеток гликлазида и фитосубстанции.....	169
6.4 Фармакологические исследования разработанного состава пролонгированных таблеток гликлазида и фитосубстанции	178
6.5 Изучение стабильности и сроков годности матричных таблеток	184
Заключение по главе 6	189
ГЛАВА 7 РАЗРАБОТКА СОВРЕМЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ – САШЕ–ГРАНУЛ	191
7.1 Выбор и фармакотехнологическое обоснование состава, комбинированных саше-гранул гликлазида с фитосубстанцией.....	191
7.2 Технологическая схема получения, комбинированного саше-гранул гликлазида с фитосубстанцией	202
7.3 Стандартизация комбинированного саше-гранул с гликлазидом и фитосубстанцией	205
7.4 Фармакологические исследования разработанного состава, комбинированных саше-гранул с гликлазидом и фитосубстанцией.....	210
7.5 Изучение стабильности и сроков годности саше-гранул.....	215

Заключение по главе 7	220
ГЛАВА 8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ КАЧЕСТВА ИССЛЕДУЕМЫХ ФИТОЭКСТРАКТОВ, МИКРОКАПСУЛ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА ИХ ОСНОВЕ.....	222
8.1 Определение норм качества предложенного состава фитосубстанции ..	222
8.2 Валидация методики количественного определения	224
8.3 Разработка и валидация метода анализа гликлазида в предложенных лекарственных формах	230
Заключение по главе 8	239
ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ	240
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	242
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	244
ПРИЛОЖЕНИЯ	270

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Сахарный диабет – глобальная медицинская и социальная проблема для всего человечества. В наше время его отличает значительная динамизация в отношении роста. Это поистине мировая эпидемия. По данным ВОЗ, сахарным диабетом страдает более 2/4 населения промышленно развитых стран. Несмотря на принятие в большинстве стран мира национальных программ по борьбе с сахарным диабетом, его распространенность и заболеваемость продолжают увеличиваться не только среди населения старше 40 лет, но и среди подростков и даже детей. По данным Международной диабетической федерации (IDF) число людей с диабетом во всем мире приближается к 382 миллионам, а к 2035 году, по прогнозу IDF, эта цифра достигнет 592 миллионов. Такой неуклонный рост касается и республики Таджикистан.

Распространённость данного заболевания в Таджикистане среди взрослого населения составляет около 0,1%, а с нарушенной толерантностью к глюкозе 0,23-2,35%. На сегодняшний день среди всех диабетических форм в мире, в Таджикистане также, преобладает СД 2-го типа. Современный терапевтический подход к этой, несомненно, значимой форме СД заключается и в соблюдении принципов здорового питания, и в увеличении физической активности. Но это всего лишь дополнительные условия в борьбе с СД. А главное было, есть и будет это фармакотерапия.

Адекватность терапии сахарного диабета остается самым актуальным вопросом, так как установлено, что гипергликемия является пусковым моментом многих патогенетических механизмов, способствующих развитию сосудистых осложнений. В последние годы — это подтверждено. Одной из наиболее серьёзных сложностей в отношении достижения положительных результатов в борьбе с пандемией COVID-19 стали осложнения у больных с СД.

В связи с этим любые исследования в плане лечения и профилактики СД, которые должны нивелировать побочные эффекты и усилить гипогликемическое

действие, могут входить, как составляющие, в проблему лечения и профилактики сахарного диабета. Оптимальной формой её решения являются соответствующие фармацевтические разработки.

Несмотря на серьёзные и объёмные медико-фармацевтические исследования в области фармакотерапии диабета 2-го типа, лекарственных средств, способных обеспечить их широкий выбор, пока недостаточно.

Разработка и создание оригинальных, рациональных отечественных лекарственных средств соответствующей направленности действия и доказательной эффективности, может быть одним из условий для решения в отношении лечения и профилактики сахарного диабета.

При этом оптимальной формой является «сквозная» разработка лекарственного средства, то есть, начиная от выбора субстанции и заканчивая рациональной лекарственной формой.

В лечении сахарного диабета, помимо гормональных и синтетических лекарственных препаратов, важное место занимают растительные средства, которыми пользовались с древнейших времен. Преимущество лекарственных растений перед синтетическими препаратами, заключается в том, что они не только более физиологично участвуют в метаболизме углеводов и липидов, но являются менее токсичными и экономически более выгодными. В тоже время, отказаться от использования при лечении СД синтетических лекарственных препаратов, невозможно, так как в отличие от природных средств они обладают конкретно, выраженным антидиабетическим действием. В связи с этим, перспективным является создание комбинированной субстанции, содержащей комплекс природных растительных компонентов и синтетический лекарственный объект, сочетание которых реально и должно быть полезно и эффективно.

Недостаточное количество антидиабетических лекарственных препаратов обусловлено, в том числе сложными технологическими схемами производства, а также выбором и обоснованием их оптимальных составов.

Поэтому вопросы технологического обеспечения предлагаемой субстанции и подтверждение её значимости, а также эффективности оригинальных,

комфортных для приёма лекарственных форм, указывают на важность и проблемную направленность рассматриваемых исследований.

Актуальность проводимых исследований подтверждается, рациональностью соответствующих растительных объектов, произрастающих в достаточном количестве в республике Таджикистан, то есть целесообразностью использования богатой флоры Таджикистана, а соответствующий трансфер в производство предложенных субстанций и лекарственных форм свидетельствует о возможности расширения производственных сфер для соответствующих фитопрепаратов.

Таким образом, рассматриваемая и исследуемая тема является актуальной и важной для профилактики и лечения сахарного диабета.

Степень научной разработанности изучаемой проблемы. Учитывая определенную профильность анализируемой темы, степень её научного «охвата» достаточно актуальна. Что касается вопросов, связанных с характеристикой собственно заболевания – сахарного диабета, то они представлены в литературе достаточно подробно, и разносторонне. В частности, акцент делается на фармакологическом направлении, то есть характеризуется заболевание, в том числе и диабет 2-го типа. Необходимо отметить работы И.И. Дедова, С.М. Ткач, М.В. Шестаковой. Специальный раздел посвящён исследованиям в отношении сахарного диабета учёными Таджикистана, где указано, что сахарный диабет является серьезной проблемой, которая требует необходимого решения.

Что касаемо технологических подходов по лечению СД, то имеется объёмная информация по микрокапсулированию, которая отражена в работах российских учёных Ю.А. Полковниковой, В.Э. Ким и др. Следует также отметить исследования лекарственных форм с антидиабетической направленностью действия, выполненные в Пятигорске С.Е. Стороженко, С.В. Трофимовым. В связи с этим, исследования, связанные с лекарственными формами сахароснижающего профиля, возможно и целесообразно развивать.

Связь исследования с программами (проектами), научной тематикой. Настоящая тема входит в НИОТКР Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский

государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации №121082500130-5: «Разработка новых и совершенствование существующих лекарственных препаратов природного и синтетического происхождения».

Цель исследования. Комплексные научно-обоснованные экспериментальные исследования создания комбинированной отечественной субстанции антидиабетической направленности действия, разработка соответствующих оригинальных комфортных для приёма лекарственных форм, их валидация и фармакологическое подтверждение.

Задачи исследования:

1. Проверить и обосновать информационный блок необходимых исследований в отношении составляющих субстанции лекарственных средств и выбранных фитообъектов. Составить дизайн исследования.
2. Разработать и обосновать с использованием компьютерного моделирования состав исходной комбинированной субстанции, рассмотреть её физико-химические и технологические свойства.
3. Разработать оптимальные лекарственные формы на базе микрокапсул – таблетки.
4. Разработать и обосновать саше как лекарственную форму и упаковку.
5. Разработать инновационную лекарственную форму – спансулы.
6. Стандартизировать предложенные лекарственные формы, определить их стабильность.
7. Провести подтверждающие фармакологические исследования разработанных лекарственных форм.
8. Разработать и аprobировать нормативные документы.

Научная новизна исследования. Впервые разработана «сквозная» технологическая схема, состоящая из 2-х этапов: создание комбинированной субстанции и разработка оптимальных лекарственных форм микрокапсулированного характера.

Разработана оптимальная технология получения микрокапсул как промежуточного продукта и выполнено подтверждение целесообразности.

При этом, в качестве вспомогательных веществ использованы такие соединения как ПЭГ, желатин, производные целлюлозы, а в качестве фитообъектов взят фитокомплекс: галега лекарственная, солодка голая, мята перечная. В качестве синтетического объекта выбран гликлазид.

Впервые разработаны оригинальные лекарственные формы на основе комбинированной антидиабетической субстанции. Проведена их стандартизация с валидацией методик, выполнены фармакологические подтверждения эффективности. Впервые разработана технология получения вышеназванных лекарственных форм, выявлены критические технологические точки.

В работе впервые задействованы элементы компьютерного моделирования, что позволило акцентировать теоретическую часть диссертации.

Теоретическая и научно-практическая значимость исследования. Проведена апробация технологической воспроизводимости разработанной технологии. Получены соответствующие акты аprobации, проведённой на предприятии ООО «Ясмина Мед». Пилотный эксперимент, проведённый на предприятии, свидетельствует о технологической возможности получения целевого лекарственного средства на производстве.

Разработанные и валидированные методики стандартизации, полученные с использованием спектрофотомерии и ВЭЖХ, также в перспективе будут применены на данном производстве.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты создания оригинальных лекарственных форм для коррекции сахарного диабета: таблетки с микрокапсулами, спансулы с микрокапсулами, саше-гранулы, состоящие из комплекса растительных экстрактов солодки голой, галеги лекарственной, мяты перечной и синтетического препарата гликлазид.

2. Результаты разработки норм качества созданных лекарственных препаратов.

3. Результаты фармакологических исследований разработанных лекарственных форм – оценка их специфической активности и возможных побочных эффектов.

4. Результаты обоснования подхода к выбору новых систем доставки лекарственных средств к органам и тканям при СД и его осложнениях.

5. Создание общей методологической блок-схемы разработки предложенных лекарственных форм и их производства (дизайн исследования).

6. Итоги внедрения результатов исследований в фармацевтическую практику.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов определяется объёмными экспериментальными исследованиями, воспроизводимостью полученных результатов, их обсуждением в конце каждой главы. В работе использованы физико-химические, технологические, биофармацевтические методы исследования. Включены элементы компьютерного моделирования и статистические методы анализа. Методология исследований основывалась на современных подходах и требованиях к фармацевтической разработке лекарственных средств.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа полностью соответствует паспорту научной специальности шифра 3.4.1 – Промышленная фармация и технология получения лекарств, соответствующей области исследования, в частности пунктам: 3. Разработка технологий получения субстанции и готовых лекарственных форм. 4. Исследования по изучению особенностей технологии получения готовых лекарственных форм из различных видов субстанций, сырья и вспомогательных веществ. 6. Исследование биофармацевтических аспектов в технологии получения лекарственных средств их дизайн и изучение факторов, влияющих на биодоступность.

Личный вклад соискателя ученой степени в исследования. Проведение научно-информационного поиска. Основная экспериментальная часть работы - разработка состава комбинированной субстанции, разработка состава и

технологии микрокапсул, содержащих комбинацию фитосубстанции и гликлазида, разработка составов и технологии спансулы, матричных таблеток, состава саше-гранул, аналитические исследования разработанных составов лекарственных форм их технологическая стандартизация, фармакологическая аprobация, разработка дизайна исследования, статистическая обработка и анализ полученных результатов выполнены лично автором.

Апробация результатов диссертации Материалы диссертации докладывались на следующих научных конференциях: Международная научно-практическая конференция «Фармация: от науки до практики» ТГНУ 12.22.21 г.; XVIII Международная научно-практическая конференции «РОССИЙСКАЯ НАУКА В СОВРЕМЕННОМ МИРЕ» 28.02. 2025г.; Всероссийская конференция «Фармация: опыт и перспективы развития» ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России 21 марта 2025 г.; VIII Международная научно-практическая конференция «НАУКА, ОБЩЕСТВО, ИННОВАЦИИ: АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ СОВРЕМЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ» 10 сентября 2025 г.; V Международная научно - практическая конференция «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ НАУКИ И ОБРАЗОВАНИЯ 2025 » 15 сентября 2025 г.

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 19 научных трудов, из них – 7 в рецензируемых и рекомендуемых журналах, 4 доклада на научно– практических конференциях, получено 3 патента на изобретение Российской Федерации.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, 8 глав и заключения. Изложена на 287 страницах машинописного текста, содержит 64 таблицы и 63 рисунка. Список литературы содержит 214 наименований, из них 117 на русском языке и 97 на иностранных языках.

ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ФИТОПРЕПАРАТОВ АНТИДИАБЕТИЧЕСКОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ – (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Комбинированные лекарственные формы из различных фармакотерапевтических групп

Комбинированный препарат или комбинация фиксированных доз – это лекарство, которое включает два или более активных ингредиента, объединенных в одну лекарственную форму. Первоначально комбинированные лекарственные препараты с фиксированными дозами были разработаны для лечения одного заболевания.

Однако комбинированные препараты также могут быть нацелены на множественные заболевания и состояния.

Некоторые примеры комбинированных препаратов включают:

- Аспирин/Парацетамол/Кофеин
- Карбидопа/леводопа/энтакапон
- Глюкоза/фруктоза/фосфорная кислота
- Элексакафтор/тезакафтор/ивакафтор
- Индакатерол/мометазон Абакавир/ламивудин
- Тенофовир дизопроксил/эмтрицитабин

Сложные комбинации препаратов (четыре и более):

- Этамбутол/изониазид/пиразинамид/рифампицин
- Гиосциамин/гексаметилентетрамин/фенилсалцилат/метиленовый синий/бензойная кислота

Помимо того, что они являются просто средством облегчения комбинированной терапии, конкретные преимущества комбинированных лекарственных препаратов с фиксированной дозой включают повышение приверженности к применению за счёт уменьшения количества препарата для

пациентов, дают возможность составлять комбинированные профили. Например, фармакокинетика эффекта и побочных действий, которые могут быть специфичными, обеспечивают более простой обзор по сравнению с просмотром профилей каждого отдельного препарата индивидуально. Такие комбинированные профили могут также включать эффекты, вызванные взаимодействием между отдельными лекарственными средствами, которые могут не учитываться в индивидуальных профилях лекарств.

Аспирин/Парацетамол/Кофеин – комбинированный препарат, каждый компонент которого «вносит» существенный вклад в общий фармакологический эффект, данных НПВС. Ацетилсалициловая кислота обладает жаропонижающим и противовоспалительным действием, ослабляет боль, особенно вызванную воспалительным процессом, а также умеренно угнетает агрегацию тромбоцитов и тромбообразование, улучшает микроциркуляцию в очаге воспаления. Кофеин повышает рефлекторную возбудимость спинного мозга, возбуждает дыхательный и сосудодвигательный центры, расширяет кровеносные сосуды скелетных мышц, головного мозга, сердца, почек, снижает агрегацию тромбоцитов, уменьшает сонливость, чувство усталости, повышает умственную и физическую работоспособность. В данной комбинации кофеин в малой дозе практически не оказывает стимулирующего действия на центральную нервную систему, однако способствует нормализации тонуса сосудов мозга и ускорению кровотока. Парацетамол обладает анальгетическим, жаропонижающим и крайне слабым противовоспалительным действием, что связано с его влиянием на центр терморегуляции в гипоталамусе и слабовыраженной способностью ингибировать синтез простагландинов в периферических тканях.

Интересными комбинациями, на наш взгляд, являются препараты, содержащие химический компонент и лекарственное растительное сырьё. Наглядным примером такого сочетания может стать микстура Кватера.

Микстура Кватера. Состав включает 10 граммов корня валерианы, 4 грамма мяты перечной, 3 грамма натрия бромида, 0,8 граммов сульфата магния, 0,6 граммов амидопирина, а также 0,4 грамма кофеина (200 миллилитров

микстуры). Такое сочетание химических ингредиентов и ЛРС обеспечивает эффект при неврастении, дисциркуляторной энцефалопатии с ипохондрическими, астеническими, депрессивными синдромами, нарушениях сна любого генеза, за счёт суммирования эффектов каждого компонента.

Следующим примером может быть давно известный и проверенный *сироп Пертуcина*. Комбинированный препарат, содержащий экстракт травы чабреца, который оказывает отхаркивающее действие, увеличивает количество секреторного отделяемого слизистых оболочек верхних дыхательных путей, способствует разжижению мокроты и ускорению её эвакуации. Калия бромид снижает возбудимость центральной нервной системы. Применяется в качестве отхаркивающего средства в комплексной терапии острых респираторных заболеваний; трахеитов, бронхитов, а также при коклюше.

Анализ данных литературы, не выявил обширного списка комбинированных лекарственных форм, содержащих индивидуальные препараты и лекарственное растительное сырьё или их полупродукты. Исследователи из Пятигорска (Степанова Э.Ф., Мониб Даду, 2022 г.) предлагают интересную комбинацию пирацетама и экстракта валерианы и мяты.

Однако, мы не можем не учитывать тот факт, что наряду с ростом на фармацевтическом рынке синтетических препаратов, нельзя забывать все достоинства растительных объектов. Возросший в последнее время интерес к фитотерапии не случаен, поскольку лекарственные средства растительного происхождения имеют ряд преимуществ перед химиотерапевтическими препаратами. Комплекс веществ, содержащийся в ЛРС, действует поливалентно, стимулируя различные системы организма, компенсируя недостаточную функцию. Это действие (более мягкое, пролонгированное), как правило, не вызывает аллергических заболеваний и осложнений. Важными моментами являются простота и дешевизна, а также доступность ЛРС. А применение лекарственных средств растительного происхождения совместно с синтетическими дает возможность уменьшить или полностью нивелировать побочные действия последних.

За счёт многообразия БАВ, содержащихся в растениях, терапевтический эффект суммарных фитопрепаратов (ФП) складывается из суммы множественных воздействий на организм и функциональные системы. Следует отметить, что стремление к максимальному использованию всего комплекса растительных БАВ прослеживается во многих традиционных системах, а также в практике народной медицины [1].

1.2 Лекарственные растения антидиабетического действия, произрастающие в Таджикистане и сборы на их основе

Эволюция в лечении СД, который ещё в начале XX века был смертельным заболеванием, а уже в обозримом будущем перестанет считаться патологией, которая ограничивает качество жизни и создает серьёзные барьеры при реализации больными своих возможностей, будет безусловно зависеть от разработки новых лекарственных форм.

В настоящее время в медицинской практике важное место принадлежит лекарственным средствам растительного происхождения, т.к. они обладают широким спектром биологической активности, что позволяет использовать их для профилактики и лечения многих заболеваний.

Между тем, потребность населения, возможности расширения применения фитопрепаратов (ФП) удовлетворяются далеко не полностью, главным образом из-за неэффективной переработки лекарственного растительного сырья и дефицита некоторых его видов. В связи с этим особое значение приобретают исследования по созданию эффективных, целенаправленных технологий в производстве фитохимических лекарственных средств, в том числе и суммарных ФП, с целью комплексного использования ЛРС, достижения более высоких выходов, расширения спектра извлекаемых БАВ и ресурсосбережения.

В Республике Таджикистан (РТ) произрастает 4513 видов растений, из них 640 являются эндемическими [Назаров М.Н. и соавт. 2018]. В РТ органами здравоохранения разрешены к использованию и приготовлению лекарственных

форм около 70 наименований видов лекарственных растений, входящих в Государственную Фармакопею (ГФ) Российской Федерации (РФ) XIV издания [Назаров М.Н. 2001; Государственная программа РТ 2005; Государственная Фармакопея 2018]. Почти 40% растений, произрастающих в РТ, составляют дикорастущие [Хайдаров К.Х.1988; Ходжиматов М.1989].

Выдающийся таджикский учёный – энциклопедист, гениальный врач Абуали ибни Сино в «Каноне врачебной науки» описал более 800 лекарственных растений, в том числе и дикорастущие. Великий учёный отмечает, что многие дикорастущие растения более богаты и полноценны по содержанию биологически активных веществ (БАВ), чем некоторые культивируемые растения (Болтаев М.Н. 2002; Тохирி М. 2010; Бочалов, В.И. 2011; Абуали ибни Сино X век; SayiliA. 1987). О пользе дикорастущих растений отмечено также в произведениях совремённых учёных (Ходжиматов М., 1989; Бердымухамедов Г.М., 2009; Корсун В.Ф., 2010; Ишанкулова Б.А.2019; Wojicki J. et all., 2005; Herz R.S., 2009).

Авторами из Таджикистана (Ишанкулова Б.А., Юлдашева У.П., Урунова М.В., 2013 г.) был проведен поиск и экспериментальное изучение наиболее перспективных лекарственных растений из числа местной Таджикской эндемической флоры, обладающих сахароснижающим действием. В результате доказано, что отвар и экстракт корней герани холмовой, отвар плодов софоры японской, настой листьев винограда культурного, также созданные на их основе антидиабетические сборы «Юнибет», «Фитобет» и «Маранкхуч», обладают выраженным сахароснижающим эффектом. Соответственно показателям сахара в крови по окончании эксперимента была выявлена следующая закономерность: экстракт корней герани $4,4\pm0,02$ ммоль/л; отвар корней герани $5,2\pm0,03$ ммоль/л; отвар плодов софоры японской $5,8\pm0,03$ ммоль/л; настой листьев винограда культурного $6,5\pm0,03$ ммоль/л; настой «Арфазетин» $6,6\pm0,03$ ммоль/л. Среди изученных антидиабетических сборов, на уровень гликемии при аллоксановом диабете более эффективное действие оказывал сбор «Маранкхуч» - $4,8\pm0,01$ ммоль/л, чем «Фитобет» - $5,1\pm0,01$ ммоль/л и «Юнибет» - $5,3\pm0,02$ ммоль/л.

Полученные результаты позволяют рекомендовать изученные лекарственные растения для комплексного лечения больных сахарным диабетом II типа легкой и средней степени тяжести с синтетическими средствами.

Халиловой Ш.Н. с соавторами (2020 г.) изучена гиполипидемическая, гипогликемическая, антиоксидантная активность настоев луков Розенбаха и гигантского Регеля. Автор изучала гипогликемические свойства на модели ГХСД (гиперхолестериновой диеты), а также на модели экстрапанкреатической гипергликемии (тест толерантности к глюкозе). Оценку состояния углеводного обмена при ГХСД проводили по концентрации глюкозы и содержанию гликолизированного гемоглобина (*HbA_{1c}*) в сыворотке крови белых крыс. Толерантность к глюкозе изучали на белых крысах путём однократно внутрибрюшинной (в/б) инъекции 20% раствора глюкозы в дозе 2.5 мл. Отмечено, что *HbA_{1c}* является показателем длительного увеличения содержания сахара в крови (более 3-х месяцев) в результате его соединения с гемоглобином. Этот показатель является ценным для ранней диагностики нарушений обмена углеводов, а также контроля качества эффективности лечения. Полученные результаты доказывали сахароснижающие свойства луков Розенбаха и гигантского Регеля, так как снижают повышенный уровень глюкозы и гликолизированного гемоглобина в крови. Работы этого автора и других таджикских ученых учёных доказали, что флавоноидсодержащие и эфиромасличные растения улучшают функциональное состояние поджелудочной железы и повышают активность β-клеток островков Лангерганса (Ишанкулова Б.А. 2015; Азонов Дж.А.2017).

В Российской Федерации и за её пределами широко применяют сборы «Арфазетин» и травяной напиток «Диаб».

Наибольшим спросом пользуется сбор «Арфазетин», который содержит траву зверобоя продырявленного, цветки ромашки аптечной, створки плодов фасоли обыкновенной, траву хвоща полевого, побеги черники, плоды шиповника, корневища с корнями элеутерококка. Применяют при легкой форме - в качестве средства самостоятельной терапии; при диабете средней тяжести - в сочетании с

пероральными сахароснижающими препаратами или инсулином. Однако, ограничением является достаточно неудобный процесс приготовления самого настоя. Данный настой требует корректировки вкуса, определенных условий хранения после приготовления и, конечно, дозирование сбора для приготовления настоя с помощью столовой ложки не удобно.

Травяной напиток «Диаб» содержит чай зеленый, тимьян ползучий, створки фасоли, ламинарию, лист лавра благородного, траву галеги, лист шалфея лекарственного, лист черники, лист ореха грецкого, лист подорожника, траву зверобоя, эхинацеи, цветки ромашки, корень солодки, зелень сельдерея. Полезен при хронических заболеваниях поджелудочной железы, в комплексной и поддерживающей терапии при сахарном диабете обоих типов в качестве вспомогательного природного противовоспалительного и сахароснижающего средства. Растения, входящие в состав напитка, способствуют очищению поджелудочной железы, способствуют нормализации всех видов обмена веществ, в первую очередь углеводного, оказывают благотворное влияние на печень, селезёнку и весь желудочно-кишечный тракт, способствуют нормализации гормонального баланса, снижают уровень сахара в крови, улучшают самочувствие, повышают иммунитет. Содержат инсулиноподобные и гормоноподобные вещества (растительные гормоны), что позволяет, при регулярном употреблении чая, значительно снизить дозу вводимого инсулина и других антидиабетических средств. Однако и он не лишен недостатков, указанных для предыдущего сбора.

1.3 Современные виды доставки лекарственных средств 1-го поколения – микрокапсул. Таблетки с микрокапсулами

Особенность микрокапсулированных форм заключается в том, что вещество защищено от воздействия различных факторов окружающей среды, которые могут вызвать их разрушение (кислотность желудочного сока, влияние пищи, совместный приём с другими препаратами, заболевания желудочно-кишечного

тракта и т. п.). Данный метод применяется для различных групп препаратов, таких как антибиотики, ноотропы, витамины, пробиотики, противосудорожные препараты, ферменты, растительные экстракты. Особое внимание следует уделить сахароснижающим препаратам, так как возможность микрокапсулирования решает одну из важнейших проблем терапии сахарного диабета – инактивацию действующих веществ в желудке.

Микрокапсулирование – довольно сложный технологический процесс заключения веществ в тонкую оболочку, изолирующую их от внешней среды. Микрокапсулы имеют вид отдельных частиц или агломератов размером от 1 до 5000 мкм. В медицинской практике наиболее часто применяются микрокапсулы размером от 100 до 500 мкм. Технология образования оболочек в последнее время достигла столь высокого совершенствования, что позволяет наносить покрытия на частицы размером менее 1 мкм. В фармацевтической промышленности микрокапсулирование нашло широкое применение. С его помощью стабилизируют неустойчивые препараты (витамины, антибиотики, вакцины, сыворотки, ферменты), маскируют вкус неприятных лекарственных веществ (касторовое масло, рыбий жир, экстракт алоэ, кофеин, хлорамфеникол, бензедрин), превращают жидкости в сыпучие продукты, регулируют скорость высвобождения или обеспечивают высвобождение биологически активного вещества в нужном участке ЖКТ, изолируют несовместимые вещества, улучшают сыпучесть, создают новые типы продуктов диагностического назначения.

Большинство фармацевтических препаратов производят в микрокапсулированном виде для увеличения продолжительности терапевтического действия при пероральном введении в организм с одновременным снижением максимального уровня концентрации препарата в организме. Этим способом удается сократить, по крайней мере вдвое, число приёмов препарата и ликвидировать раздражающее действие на ткани, вызываемое прилипанием таблеток к стенкам желудка. Гастролабильные препараты заключают в оболочки, устойчивые в кислых средах и разрушающиеся в слабощелочных и нейтральных средах кишечника.

Важная область применения микрокапсулирования в фармации – совмещение в общей дозировке лекарственных веществ, несовместимых при смешивании в свободном виде. Микрокапсулированные препараты лучше хранить и удобнее дозировать. В качестве носителей микрокапсул используют при создании терапевтических систем доставки лекарственных веществ. Микрокапсулы состоят из капсулируемого (инкапсулируемого) вещества и капсулирующего материала. Капсулируемое вещество, называемое содержимым, образует ядро микрокапсул, а капсулирующий материал образует оболочку.

Содержимое микрокапсул (внутренняя фаза или ядро) может составлять 15-99% их массы. Эта величина может колебаться в зависимости от метода и условий получения (температуры, степени диспергирования, вязкости среды, наличия поверхностно-активных веществ), соотношения количеств материала оболочек и капсулируемого вещества и т.п. Внутренняя фаза может представлять собой индивидуальное вещество, смеси, дисперсии или растворы веществ.

Толщина оболочки может быть однослойной или многослойной, эластичной или жесткой, с различной устойчивостью к воздействию воды, органических растворителей. Оболочки микрокапсул должны хорошо прилипать к инкапсулируемому веществу, обеспечивать герметичность, эластичность, определённую проницаемость, прочность и стабильность при хранении. Для получения оболочек используют значительное количество натуральных и синтетических плёнкообразующих соединений, большинство из которых являются инертными в обычных условиях и разрешенными к медицинскому применению. Типичными материалами оболочек являются органические полимеры – белки (желатин, альбумин), полисахариды (декстраны и камеди), воски, парафин, производные целлюлозы (метил-, этил-, ацетил-, ацетилфталил-, нитро- и карбоксиэтилзамещенные), поливиниловый спирт, поливинилацетат, поливинилхлорид, полиэтиленгликоль, полиакриламид, полисилоксаны, полималеинаты, полисульфиды, поликарбонаты, полиэфиры, полиамиды, различные сополимеры, а также неорганические материалы – металлы, углерод, силикаты и другие.

При необходимости заключения веществ в общую оболочку возможно изготовление «микрокапсул в капсуле», спрессовать микрокапсулы в таблетку.

Характеристики микрокапсул, в том числе толщина и количество оболочек, могут варьировать в широком диапазоне, что позволяет создавать препараты с заданной и контролируемой скоростью действия инкапсулируемых веществ.

Примером использования микрокапсул для снижения токсичности является микрокапсулирование новокаинамида, ацетилсалициловой кислоты и других лекарственных средств. Итальянские учёные осуществили микрокапсулирование кетопрофена - плохо растворимого анальгетика, хорошо сорбирующегося из желудочно-кишечного тракта, но вызывающего раздражение, и это позволило уменьшить негативное влияние лекарственного препарата на организм [2].

При лечении хронического алкоголизма необходим длительный приём традиционных таблеток «Тетурам» внутрь, который не удобен пациентам и порой трудно осуществим. Не оптimalен и инъекционный способ из-за использования органического растворителя. Разработан способ получения средства для коррекции нарушений при алкоголизме в виде лекарственной формы дисульфирама пролонгированного действия, содержащей микрокапсулы лекарственного вещества, покрытые двухслойной оболочкой из полисахаридов. Этим достигается стабильная кинетика выделения лекарственного препарата в ткани и длительный эффект пролонгации, что позволяет облегчить курсовое лечение.

В литературе можно найти примеры корректирования неприятного вкуса с помощью микрокапсулирования. Так, при разработке детского сиропа предложено включение метронидазола в микрокапсулы для маскировки неприятного горького вкуса, а также пролонгирования фармакологического действия. Имеются данные о разработке микрокапсул с ибупрофеном и парацетамолом для коррекции горького вкуса.

Эзомепразол неустойчив в кислой среде, поэтому принимается внутрь в виде кишечнорастворимых капсул, содержащих микрокапсулы препарата, оболочка которых также устойчива к действию желудочного сока, под торговым

названием «Эманера», типичного представителя ингибитора протонного насоса, но не в типичной лекарственной форме.

Ранее было указано, что микрокапсулированию могут быть подвергнуты и растительные экстракты, а также в комплексе с синтетическими веществами. Такое технологическое решение может дать возможность сочетать природные и синтетические объекты, конкретизировать место доставки и контролировать степень высвобождения с помощью толщины и количества оболочек.

Разработка комбинированного препарата - антидиабетической субстанции (гликлазид) и фитокомплекса в виде сухих экстрактов солодки голой, галеги лекарственной и мяты перечной в виде микрокапсул может обеспечить гипогликемический эффект, нивелируя побочные эффекты химической составляющей.

Гликлазид - пероральное гипогликемическое средство, производное сульфонилмочевины II поколения. Стимулирует секрецию инсулина β -клетками поджелудочной железы. Повышает чувствительность периферических тканей к инсулину. Стимулирует активность внутриклеточных ферментов (в частности, мышечной гликогенсинтетазы). Уменьшает промежуток времени от момента приёма пищи до начала секреции инсулина. Восстанавливает ранний пик секреции инсулина, уменьшает постпрандиальный пик гипергликемии.

Гликлазид уменьшает адгезию и агрегацию тромбоцитов, замедляет развитие пристеночного тромба, повышает сосудистую фибринолитическую активность. Нормализует проницаемость сосудов. Обладает антиатерогенными свойствами: понижает концентрацию в крови общего холестерина и ЛПНП, повышает концентрацию ЛПВП, а также уменьшает количество свободных радикалов. Препятствует развитию микротромбоза и атеросклероза. Улучшает микроциркуляцию. Уменьшает чувствительность сосудов к адреналину. При диабетической нефропатии на фоне длительного применения гликлазида отмечается достоверное снижение протеинурии.

В ГРЛС указан гликлазид, как отечественного, так и импортного производства Сервье (Диабетон, Франция) под различными торговыми

наименованиями, но в одной лекарственной форме – таблетки с модифицированным высвобождением. Расширение диапазона фармакологического действия, на наш взгляд, напрямую связано с конструированием такой лекарственной формы как таблетки с микрокапсулами с различным количеством оболочек.

Сахароснижающее действие лекарственных растений связано с наличием в их составе особых веществ - гликокининов, инсулиноподобных веществ, флавоноидов, полифенолов и эфирных масел [14, 15, 16]. Это очень хорошо понимают и учёные Таджикистана.

За последние годы учёные Таджикистана разработали ряд эффективных антидиабетических сборов, используемых преимущественно при сахарном диабете II типа, а также в комплексной терапии сахарного диабета 1 типа.

Поэтому, конкретизируя поставленную проблему, можно считать, что поиск наиболее эффективных эфиромасличных и полифенолсодержащих растений, а также разработка на их основе инновационных лекарственных форм, является актуальным для современной фармакологии и диабетологии.

Опираясь на опыт древнетаджикских и народных врачей, а также на литературные данные о лекарственных растениях флоры Таджикистана, нами были выбраны растения, обладающие выраженным сахароснижающим действием.

Галега лекарственная (*лат. Galega officinalis; англ. Galega, Professor-weed*) – многолетнее травянистое растение, достигающее метровой высоты. Растение принадлежит роду «Козлятник», входящему в семейство «Бобовые» (Fabaceae). Плоды галеги – бобы, содержащие 5-7 зеленовато-жёлтых семян. При созревании семян бобы остаются висеть на растении, не опадают и не трескаются, а просто высыхают на солнце. Несмотря на многочисленные научные исследования, растение не является официальным и до сих пор не включено в Государственную фармакопею. Впрочем, галега не запрещенное растение, поэтому широко применяется в биологически-активных добавках к пище (БАД). В народной медицине препараты на основе галеги (настои, отвары, экстракты, чаи)

применяют для лечения сахарного диабета. Богатый химический состав галеги эффективен при правильной дозировке. Стебли и семена содержат алкалоид галегин, который используется для выработки метформина. Также галега содержит сапонины, дубильные вещества, азотосодержащие соединения, витамин С, каротин, кверцетин, танины и др. Галегин снижает уровень сахара в крови, усиливает выработку инсулина, повышает уровень гликогена в печени.

Солодка голая – *Glycyrrhiza glabra*. Главным действующим веществом корня солодки является глицирризиновая кислота и её калиевые и кальциевые соли. Глицирризиновая кислота является одним из самых глубоко изученных и широко используемых с этой целью биологически активных веществ в мировой медицине. Солодка – золотой запас всей среднеазиатской флоры, в том числе их природная гордость.

Корень солодки применяют при заболеваниях дыхательных путей (бронхит, коклюш, бронхиальная и легочная пневмония и др.); хроническом гастрите, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки; хроническом спастическом колите со склонностью к запорам; хронических болезнях печени и желчевыводящих путей; остром и хроническом пиелонефrite; гипофункции коры надпочечников; болезни Аддисона (бронзовая болезнь); сахарном диабете; ожирении; кожных болезнях (экземе, псориазе, аллергических дерматитах и т. д.); радиационном поражении; отравлениях.

Мята перечная, она же мята холодная и мята английская (лат. *Mentha piperita*), – травянистое растение; вид рода Мята (*Mentha*), семейства Яснотковые (*Lamiaceae*). Культурное растение было получено путём гибридизации дикорастущих видов мяты – мяты водной (*Mentha aquatica*) и мяты колосистой (*Mentha spicata*).

Ментоловое эфирное масло оказывает выраженный спазмолитический, антисептический и легкий сосудосуживающий эффект. Благодаря этим полезным свойствам экстракты мяты входят в состав сердечных препаратов, а свежая трава рекомендована во время лечения стенокардии и атеросклероза. Существуют неподтвержденные данные, что ментол благотворно влияет на состояние сосудов

головного мозга. В народной медицине входит в состав антидиабетических сборов.

Таким образом, обобщая и анализируя конкретные данные, в том числе и существующие литературные сведения, можно предполагать, что приоритеты в лечении сахарного диабета, а также его профилактики, принадлежит растениям семейства бобовых, астровых, яснотковых, мальвовых и других, гипогликемическое действие которых обусловлено тритерпеноидами и полифенольными соединениями. Самым существенным фармакологическим действием этой группы является нормализующее влияние на ПОЛ клеточных мембран. Поэтому, учитывая столь широкий фармакологический диапазон, можно утверждать, что их возможности использования в медицине далеко не исчерпаны и они могут стать надежной базой для оригинальных составов антидиабетических препаратов. Формирование субстанции из лекарственных растений мы выполнили с использованием соответствующих сухих экстрактов с нелимитируемым верхним пределом действующих веществ.

Сочетание вышеперечисленных экстрактов с гликлазидом, получение из такой комбинации микрокапсул с последующим таблетированием, является интересным и вполне обоснованным направлением.

1.4 Инновационные лекарственные формы: спансулы

Спансула — это капсула для внутреннего применения, содержащая смесь микродраже (микрокапсул) с различным временем растворения лекарственных веществ. В спансуле можно смешивать три, четыре и даже более пяти типов микродраже (микрокапсул) с разным временем освобождения, а значит и всасыванием действующих веществ. В спансулу можно помещать 50-400 микродраже, порошки, а также взвеси и жидкости.

Таким образом, спансулы — это твёрдые капсулы с крышечками, заполненные микрокапсулами. Применяют их внутрь и их действующий компонент высвобождается на всем протяжении желудочно-кишечного тракта.

Пролонгированная капсула (спансула) - отличается возможностью продлённости действия и этот эффект связан с материалом оболочки микрокапсул, которыми наполняют саму спансулу.

Спансула с микрокапсулами, в настоящее время, трактуется как одна из современнейших лекарственных форм и широко внедряется в производство и медицинскую практику. Высокая популярность объясняется целым рядом преимуществ и положительных характеристик. Современные технологии позволяют получать микрокапсулы с использованием расширенного ассортимента вспомогательных веществ с включением в них веществ гидрофильной природы, например, водных растворов лекарственных и биологически активных веществ.

Материалы для формирования оболочки микрокапсул разнообразны: это прежде всего традиционный вариант - желатин, а также полиэтиленгликоли различной степени полимеризации, колликут, колидон К-30, плаздон К-90.

Многочисленные исследования в области микрокапсул (Суворова О.М., Сапрёкина Н.Н., Вилесов А.Д., 2015; Быковская Е.Е., Кролевец А.А., 2012; Колесникова Т.А., 2010 и др.) изучали возможности формирования микрокапсул из различных материалов. Железнов К.Н. и Савинов В.С. в 1970-х годах предложили формирование микрокапсул путём диспергирования капсулируемого вещества в водном растворе желатина и сульфата натрия при нагревании с последующим охлаждением, стабилизацией формальдегидом и дублением водным раствором хромолана.

Способы получения: микрокапсулирование - достаточно дорогой метод и в ряде случаев требует использования специальной аппаратуры, дорогостоящих установок и материалов.

Технология получения микрокапсул основана на процессах плёнкообразования на границах раздела фаз: жидкость - жидкость, жидкость - твердое тело, газ (пар) - жидкость, газ (пар) - твердое тело. Применяют физические, физико-химические, химические методы.

К физическим относят методы дражирования, распыления, диспергирования жидкости, электростатического напыления, напыления в псевдоожиженном слое, напыления в центрифугах и др. Суть методов заключается в механическом нанесении оболочки на твёрдые или жидкие частицы микрокапсулируемого вещества. При дражировании фракция кристаллов микрокапсулируемого вещества вращается в дражировальном котле и опрыскивается из форсунки раствором плёнкообразователя. При распылении суспензия микрокапсулируемого твёрдого вещества рассеивается в раствор или расплав плёнкообразователя в распылительной сушилке с помощью форсунок, дисков и других устройств. В основе метода диспергирования лежит рассеивание раствора плёнкообразователя с микрокапсулируемым веществом в жидкости, не смешивающейся с этим раствором. При электростатическом методе на частицы микрокапсулируемого вещества и капли плёнкообразователя наводят противоположные по знаку электрические заряды, пропуская их раздельные потоки в виде аэрозолей сквозь слои ионизированного газа; при объединении потоков разноименно заряженных частиц происходит коалесценция с образованием микрокапсул. При напылении в псевдоожиженном слое на образующие этот слой твёрдые частицы вещества напыляют раствор или расплав плёнкообразующего вещества с помощью сопла, форсунки, вращающегося диска. В методе центрифугирования частицы микрокапсулируемого вещества (твердого или жидкого) под воздействием центробежной силы проходят через пленку раствора плёнкообразователя и покрываются этой плёнкой.

Физико-химические методы основаны на разделении фаз. К ним относят: выделение новой фазы, испарение легколетучего растворителя в жидкой среде, затвердевание при охлаждении в жидкой среде, отверждение при распылении. Выделение новой фазы (коацервация) осуществляется в результате диспергирования микрокапсулируемого вещества в раствор или расплав плёнкообразователя. путём изменения параметров дисперской системы (рН, температура, состав и другое) добиваются образования вокруг частиц микрокапсулируемого вещества мельчайших капелек (коацерватов), сливающихся

в плёнку. Метод испарения легколетучего растворителя в жидкой среде особенно широко применяется для иммобилизации ферментов, поскольку не требует значительного повышения температуры и введения дополнительных вспомогательных веществ (повышающих механическую прочность, осадителей и др.). Микрокапсулируемое вещество диспергируют в раствор плёнкообразующего вещества в легколетучем растворителе; образующуюся суспензию (или эмульсию) смешивают (диспергируют) с нелетучей жидкостью, которая не смешивается с легколетучим растворителем и плёнкообразователем, и затем испаряют летучий растворитель, повышая температуру или снижая давление. Микрокапсулирование путём затвердевания плёнкообразующего материала при охлаждении в жидкой среде проводят в реакторе с мешалкой. Микрокапсулируемое вещество (жидкое или твердое) и воскоподобный плёнкообразователь диспергируют в большом объёме инертной нелетучей жидкости, с которой они оба не смешиваются. При повышении температуры расплавленный плёнкообразователь образует вокруг микрокапсулируемого вещества оболочку, которая при охлаждении затвердевает.

Химические методы основаны на образовании защитных покрытий вокруг ядер микрокапсулируемого вещества в результате полимеризации или поликонденсации плёнкообразующих компонентов. Процесс получения микрокапсул протекает в жидкой среде. Микрокапсулируемое вещество не должно растворяться в дисперсионной среде и иметь плотность, близкую к плотности дисперсионной среды.

Образующиеся при всех технологических приёмах сплошные оболочки микрокапсул подвергают дальнейшей обработке. В частности, для придания оболочке твёрдости используют понижение температуры или изменение pH среды, удаление растворителя, введение осадителя или сшивающего агента и прочее. Применение микрокапсул приносит большую выгоду в различных областях человеческой деятельности: в медицине, промышленности, сельском хозяйстве, быту и др. Микро- и нанокапсулирование открыло принципиально новые подходы в создании диагностических, лечебно-профилактических и

лекарственных препаратов, косметических средств, биологически активных веществ, ароматических добавок к пищевым продуктам и других видов продукции - отверженного жидкого топлива, клеев, фотоматериалов с высокой разрешающей способностью для цветной фотографии, лакокрасочных материалов (в т. ч. бактерицидных красок, содержащих наночастицы серебра для покраски стен больничных учреждений), бактерицидных тканей с напылением из микрокапсулированных химических реагентов, используемых в основном в медицине для уменьшения послеоперационного инфицирования, и пр.

Расширяя ассортимент и совершенствуя данную лекарственную форму, нельзя не отметить, что недостатками микрокапсулированных препаратов является возможная несовместимость оболочки и капсулируемого вещества, нестабильность оболочек и необходимость использования специальной, зачастую дорогостоящей аппаратуры. Анализируя данные литературы, становится очевидным, что фармацевтический рынок не заполнен данной лекарственной формой ни в качественном, ни в количественном отношении, а что касается фармакотерапии сахарного диабета, то не выявлено лекарственных форм в виде микрокапсул в составе спансулы вообще.

1.5. Современная лекарственная форма – саше-гранулы

Саше - лекарственная форма препарата в медицине. Порошок с действующим веществом помешён в однодозовый пакетик. В настоящее время препараты в форме саше являются одними из самых быстродействующих, легкоусвояемых среди всех разновидностей лекарственных форм. Например, скорость абсорбции нестероидных противовоспалительных препаратов в форме таблеток существенно ниже, чем, того же лекарственного средства в виде порошка. Пероральный приём ом диклофенака калия в форме саше - пиковая концентрация действующего вещества достигается гораздо быстрее, чем при внутримышечном введении этого препарата. Это и объясняет быстрое наступление обезболивающего действия. К такому выводу пришли специалисты

из Научно-исследовательского института ревматологии им. В.А. Насоновой и Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, которые проводили ряд исследований с диклофенаком калия в форме саше и инъекций. На основании полученных данных порошковая форма препарата может рассматриваться как эффективная альтернатива инъекциям при лечении интенсивной боли, так как обеспечивает более быстрый анальгетический эффект и лучше переносится организмом человека. В исследовании участвовали люди с такими диагнозами, как ревматоидный артрит, спондилоартрит, остеоартрит, а также пациенты с неспецифической болью в спине. Учитывая статистические данные научного проекта, 77% участников группы, которая «слепым» методом получала раствор саше диклофенака калия, отметили результат терапии на «хорошо» и «отлично». Пациенты, в лечении болевого синдрома которых выполнялись внутримышечные инъекции данного препарата, отметили эффективное снижение боли только в 61,5% случаев.

Исследования в области саше в РФ касались витаминных сборов (Гаврилов А.С., Агретдинова А.С., Болотова А.В.), упаковке пастообразных продуктов и кремов (Жданова Н.А.). Данное направление исследований пока не охватывает разнообразные фармакотерапевтические группы и требует дальнейшего развития и изучения. Лекарственные препараты в форме саше имеют ряд преимуществ.

Главное преимущество лекарственного средства в форме саше заключается в том, что оно подходит для приёма пациентам с имеющейся фобией - проглатывания таблеток. Порошок смешивается с водой и превращается в раствор.

Ошибочно мнение, что саше сложно хранить и транспортировать, так как порошки и гранулы сильно подвержены воздействиям окружающей среды. Факторы, перед которыми порошкообразные формы препаратов могли быть уязвимы — это влажность, перепады температур, неправильная перевозка и хранение. Этого можно избежать, используя специальные материалы в качестве оболочки саше.

Еще одним несомненным плюсом является точная дозировка в каждом саше строго на один раз применения. Удобство применения саше в медицине заключается и в том, что пакет с лекарственным средством не нужно делиТЬ, дробить или рассчитывать нужное количество.

Улучшение лекарственных форм из, например, лекарственного растительного сырья в виде готовых саше создает большие преимущества перед использованием растений в измельченном виде и не расфасованных.

На VI Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, посвященной году науки и технологий «Актуальные вопросы совремённой медицинской науки и здравоохранения» (г. Екатеринбург, 08-09 апреля 2021 года), учёные из Уральского государственного университета, Гаврилов А.С., Агретдинова А.С., Болотова А.В., рассмотрели рынок витаминсодержащих саше, предназначенных для сбалансированности диет организованного питания школьников. Они показали, что порошки для шипучих напитков достаточно редко используются и имеют практически одинаковый состав витаминов (C, B, A) при отсутствии минеральных компонентов, изучили влияние основных и вспомогательных веществ на стабильность при хранении и органолептические свойства саше для приготовления шипучих напитков. Ими же предложен состав порошка для приготовления напитков на основе жирорастворимых витаминов и минералов, в дозировке 10-25% средней суточной потребности в основных пищевых веществах для ребенка возрастом от 7 лет.

Для упаковывания пастообразных продуктов и кремов обычно используют упаковки типа саше или контейнеров. Известна упаковка для дозированных жидких лекарств, выполненная в виде саше, имеющая один продольный и два поперечных шва и надрез для вскрытия, выполненный по краю упаковки (международная публикация WO 95/01921 «Саше для жидких медикаментов» МПК B65D 75/48 B65D 75/62 от 1995.01.19).

Кроме того, известна упаковка для пастообразных продуктов, выполненная в виде плоского пакета из гибкого материала, имеющая линию вскрытия, снабженную плотными элементами, выполненными в виде полос, длина которых

соответствует длине отверстия (см. патент Российской Федерации №2368558 «Упаковка для пастообразных продуктов» МПК B65D 35/00(2006/01).

Упаковки типа саше используются как для упаковки жидких лекарств, так и повсеместно для фасовки пастообразной продукции в различной дозировке. Однако, указанные аналоги имеют низкие потребительские свойства, связанные со сложностью их использования людьми с ограниченными возможностями и детьми, так как при малой подвижности рук и пальцев, выдавливание продукта из такой гибкой упаковки, весьма затруднительно. Продукт перемещается внутри упаковки в разные стороны, но не достигает отверстия для его извлечения. Также с использованием аналоговой упаковки для людей с ограниченными возможностями и детей затруднительно равномерно нанести продукт на поверхность, потому что неравномерный выпуск продукта делает его «кучным», что предполагает необходимость его размазывания при помощи дополнительных приспособлений (ножей, ложек), что может быть опасным (Жданова Н.А., патент РФ, 2018 г.).

Заключение по обзору литературы

Таким образом, на основании подробного анализа приведённых литературных сведений можно отметить, что вопросы фармакотерапии в отношении СД по-прежнему стоят на передовых позициях современной медицинской и фармацевтической науки. Многочисленные попытки учёных по созданию инновационных лекарственных форм для лечения сахарного диабета как I, так и II-го типов, стремление заменить обременительные и весьма некомфортные инъекции – сегодня не просто актуальное направление, а «горячая линия» современной медицинской практики.

Число больных СД не уменьшается, а диапазон его последствий и ответвлений становится шире.

Поэтому лечение и профилактика СД и его серьезных осложнений должны носить многоплановый комплексный характер и предусматривать разработку лекарственных препаратов с различными видами доставки.

Несомненно, конструирование оригинальных лекарственных форм для лечения СД – задача комплексная и более чем просто актуальная, поскольку, несмотря на значительные успехи по расширению ассортимента антидиабетических лекарственных средств, форм и соответственно препаратов, сегодня их официальный список не широк, а недостатки существующих лекарственных форм вполне очевидны.

На основании анализа соответствующих литературных данных, мы считаем возможным подтвердить целесообразность, правомерность, своевремённость и объёмность выбранной нами диссертационной темы, которая является частью одной из крупных проблем нашей сегодняшней отечественной медицины и фармации – всестороннее совершенствование фармакотерапии сахарного диабета, разработка оригинальных комфортных лекарственных форм и лекарственных препаратов, создание для них оптимальных технологий производства, установление норм качества и валидационных показателей, что будет несомненно способствовать общему решению данной проблемы. Создание комбинированной

лекарственной формы с использованием синтетического компонента и экстрактов из лекарственного растительного сырья даст возможность максимально использовать вклад каждой составляющей, уменьшить побочные эффекты, снизить дозировку, кратность приёма, а микрокапсулирование с последующим таблетированием обеспечит пролонгированный эффект и адресность доставки в определенный отдел ЖКТ.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы исследования

В экспериментальных исследованиях использовались лекарственные вещества, сухие растительные экстракты, вспомогательные вещества, химические реагенты и растворители, соответствующие существующей нормативной документации и представленные в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Перечень основных и вспомогательных веществ

Наименование вещества	Производитель/нормативная документация
1	2
Гликлазид	ФС.2.1.0012
Сухой экстракт корня солодки	ООО «Хармс» серия 010122, Р N002173/01-280411 (паспорт №17л от 01.02.2022)
Сухой экстракт листьев мяты	ООО «Казанский завод экстрактов», ТР ТС 029/2012
Сухой экстракт травы галеги	
Сухой экстракт цветков липы	
Сухой экстракт листьев крапивы	
Сухой экстракт плодов шиповника	
Желатин	ГОСТ 23058-89
Глицерин	ФС.220006.15
Вода очищенная	ФС.2.2.0020.18
Полиэтиленгликоль 6000	ТУ 2483-008-71150986-2006
Спирт этиловый	ГОСТ 5962-2013
Вазелиновое масло	ФС.2.2.0004.15
Крахмал картофельный	ГОСТ 32159-2013
Микрокристаллическая целлюлоза 102 (МКЦ 102)	JRS Pharma, Германия, ТУ 9199-001-07508109-2004
Пласдон K25	Ph Eur, USP, JP, Sigma-Aldrich
Пласдон K-90	Ph Eur, USP, JP, Sigma-Aldrich
Коллидон-K30	Ph Eur, USP, JP, Sigma-Aldrich
Магния стеарат	ТУ 6-09-16-1533-90
Кальция стеарат	ТУ 6-09-4233-76
Кремния диоксид коллоидный (Аэросил)	ТУ У 24.6-05540209-003-2003
Кальция фосфат двузамещенный	ГОСТ 3204-76
Целлюлоза микрокристаллическая «Avicel-РН-103»	Ph Eur, USP, JP, Sigma-Aldrich
Гидроксипропилметилцеллюлоза (Гипромеллоза)	Ph Eur, USP, JP, Sigma-Aldrich
Гидроксигидрогидроцеллюлоза	Ph Eur, USP, JP, Sigma-Aldrich
Натрий альгинат	ТУ 15-544-83
Хитозан	ТУ 9289-067-00472124-03 ООО «Биопрогресс»

продолжение таблицы 2.1

Мальтодекстрин	Ph Eur, USP, JP, Sigma-Aldrich
Пектин	ГОСТ 29186-91
Метилцеллюлоза	Ph Eur, USP, JP, Sigma-Aldrich

В исследовании использовано оборудование, представленное в таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Перечень оборудования

Наименование прибора	Модель, производитель
Весы аналитические, класс 2	HRT-220CE, «Vibra Shinko Denshi», Япония
Весы аналитические, класс 2	ER-182A, «A&D Co. LTD», Япония
Водяная баня с электронным блоком управления температуры	БИР-1М (Россия)
Лабораторная мельница-измельчитель	VHC-250, «Venta Lab», Украина
Магнитная мешалка	ММ3М (Россия), «ИКА», Германия
Перемешивающее устройство	ES-8300, «ЭКРОС», Россия
Набор сит	«Вибротехник», Россия
Тестер для определения сыпучести	GTB, «ERWEKA», Германия
Тестер насыпной плотности порошков	ETD-1020x, Индия
Тестер распадаемости	EDI-2, Индия
Тестер истираемости	TAR220, «ERWEKA», Германия
Тестер растворимости	DT128 ligh, «ERWEKA», Германия
Гранулятор смеситель	ОВП-020К01, Россия

2.2 Методы исследования

В ходе выполнения работы были использованы физико-химические, биофармацевтические, технологические, фармакологические и статистические методы исследований. Использование Государственных фармакопей XIV и XV изданий связано с временными рамками исследований.

Физико-химические и технологические методы анализа

Определение фракционного состава.

Определение фракционного состава проводили согласно ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ» Государственной фармакопеи XIV издания, соответствует ОФС.1.4.2.0032 «Ситовой анализ» Государственной фармакопеи XV. Точную

навеску (25 г) просеивают через стандартный набор сит с различным диаметром отверстий 3,0; 2,0; 1,0; 0,8; 0,5; 0,4; 0,2; 0,1 мм, в течение пяти минут. Просеивание считают законченным, если количество материала, прошедшего через сито, составляет менее 1% от массы, оставшейся на сите, при дополнительном встряхивании в течение 1 минуты. Далее определяют содержание каждой фракции по массе в процентах.

Определение формы и размера частиц методом оптической микроскопии.

Изучение формы и размера микрокапсул и гранул осуществляли согласно ОФС.1.2.1.0009.15 «Оптическая микроскопия» Государственной фармакопеи XIV издания, соответствует ОФС.1.2.1.0009 «Оптическая микроскопия» Государственной фармакопеи XV. Исследования проводили с применением светодиодного микроскопа ЛОМО МИКМЕД-6. Фотосъемку осуществляли с помощью цифровой камеры Levenhuk M500 BASE, обработку фотографий проводили в программе LevenhukLite.

Определение степени сыпучести.

Изучение сыпучести исследуемых составов осуществляли согласно ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» Государственной фармакопеи XIV издания, соответствует ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков» Государственной фармакопеи XV с использованием стандартной воронки, фиксируя время истечения порошка. Интерпретацию результатов проводили согласно таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Шкала оценки с использованием стандартной воронки

Оценка сыпучести массы по шкале № п/п	Оценка	Значение (г/с)
1.	Отличная	8,6 – 12,0
2.	Хорошая	6,6 – 8,5
3.	Удовлетворительная	3,0 – 6,5
4.	Допустимая	2,0 – 3,0
5.	Плохая	1,0 – 2,0
6.	Очень плохая	0,3 – 1,0

Определение угла естественного откоса проводили согласно ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» Государственной фармакопеи XIV издания, соответствует ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков» Государственной фармакопеи XV. Измерения значения угла естественного откоса проводят не менее чем в 3 поверхностях при помощи угломера и выражают в угловых градусах – таблица 2.4.

Таблица 2.4 – Характер сыпучести и соответствующий угол естественного откоса

Характер сыпучести	Угол естественного откоса, градус
Отличная	25–30
Хорошая	31–35
Приём лемая (дополнительных действий не требуется)	36–40
Удовлетворительная (может застревать)	41–45
Слабая (необходимо дополнительное встрахивание или вибрация)	46–55
Плохая	56–65
Очень плохая	более 66

Определение насыпной плотности проводят согласно Государственной фармакопеи XV, ОФС.1.4.2.0024 «Насыпная плотность и плотность после уплотнения».

Насыпную плотность до уплотнения рассчитывали по формуле:

$$p_{bulk} = \frac{m}{V_0}, \quad (1)$$

где p_{bulk} – плотность до уплотнения, г/мл;

m – масса испытуемого образца, г;

V_0 – насыпной объём порошка до уплотнения, мл.

Насыпную плотность после уплотнения рассчитывали по формуле:

$$p_{tapped} = \frac{m}{V_f}, \quad (2)$$

где p_{tapped} – плотность после уплотнения, г/мл;

m – масса испытуемого образца, г;

V_f – конечный насыпной объём испытуемого образца после уплотнения, мл.

Коэффициент прессуемости рассчитывали по формуле:

$$\text{Коэффициент прессуемости} = \frac{V_0 \times V_f}{V_0} \times 100, \quad (3)$$

где V_0 – насыпной объём порошка до уплотнения, мл;

V_f – конечный насыпной объём испытуемого образца после уплотнения, мл.

Коэффициент Хауснера рассчитывали по формуле:

$$\text{Коэффициент Хауснера} = \frac{V_0}{V_f} \times 100, \quad (4)$$

где V_0 – насыпной объём порошка до уплотнения, мл;

V_f – конечный насыпной объём испытуемого образца после уплотнения, мл.

Интерпретацию результатов проводили согласно таблице 2.5.

Таблица 2.5 – Шкала сыпучести

Коэффициент прессуемости, %	Характеристика сыпучести	Коэффициент Хауснера
1–10	отличная	1,00–1,11
11–15	хорошая	1,12–1,18
16–20	приёмлемая	1,19–1,25
21–25	удовлетворительная	1,26–1,34
26–31	слабая	1,35–1,45
32–37	плохая	1,46–1,59
более 38	очень плохая	более 1,60

Определение влажности.

Определение влажности исследуемых составов осуществляли согласно ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» способ 1 Государственной фармакопеи XIV издания, соответствует ОФС.1.2.1.0010 «Потеря в массе при высушивании» Государственной фармакопеи XV.

Потерю в массе при высушивании в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_3)}{(m_2 - m_1)} \times 100\%, \quad (5)$$

где X – потеря в массе при высушивании, %;

m_1 – масса бюкса, доведенного до постоянной массы, г;

m_2 – масса бюкса с испытуемым образцом до высушивания, г;

m_3 – масса бюкса с испытуемым образцом после высушивания, г.

Гигроскопичность.

Определение способности поглощать влагу (гигроскопичность) проводили по методике, согласно ОФС.1.1.0042 «Определение гигроскопичности» Государственной фармакопеи XV. путём выдерживания бюкса с навеской в камере с относительной влажностью воздуха 100 % в течение 24 часов. 1,0 г вещества (точная навеска) помещали в предварительно взвешенный стеклянный бюкс высотой 15 мм и внешним диаметром 50 мм. Закрывают бюкс крышкой и взвешивают. Нижнюю часть эксикатора заполняют насыщенным раствором аммония хлорида при температуре 25° С, образец помещают на решетку подготовленного эксикатора, снимают крышку с бюксы и выдерживают образец в течение 24 ч. По истечении времени бюкс закрывают крышкой, достают из эксикатора и взвешивают. С целью изучения динамики поглощения влаги, бюкс с навеской образца взвешивали через 1, 6, 12, 24 ч.

Увеличение массы исследуемого вещества в процентах рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{(m_3 - m_2)}{(m_2 - m_1)} \times 100\%, \quad (6)$$

где X – увеличение массы вещества, %;

m_1 – масса пустого стеклянного бюкса, г;

m_2 – масса стеклянного бюкса с испытуемым образцом до экспозиции во влажной среде, г;

m_3 – масса стеклянного бюкса с испытуемым образцом после экспозиции во влажной среде, г.

Полученные результаты трактовали, применяя для анализируемого вещества следующие термины:

- расплывается на воздухе, если поглощает достаточное количество водяных паров с образованием жидкости;
- очень гигроскопично, если увеличение в массе составляет 15 % и более;

- гигроскопично, если увеличение в массе составляет 2 % и более, но менее 15 %;
- слегка гигроскопично, если увеличение в массе составляет 0,2 % и более, но менее 2 %.

Распадаемость таблеток и спансул.

Испытание проводили согласно ОФС.1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул» Государственной фармакопеи XIV издания, соответствует ОФС.1.4.2.0013 «Распадаемость твёрдых лекарственных форм» Государственной фармакопеи XV издания. В качестве среды для проведения анализа использовали воду очищенную.

Истираемость таблеток.

Испытание проводили согласно ОФС.1.4.2.0004.15 «Истираемость таблеток» Государственной фармакопеи XIV издания, соответствует ОФС.1.1.1.0015 «Истираемость таблеток» Государственной фармакопеи XV издания. Для проведения исследования использовали методику, соответствующую прибору 2.

Однородность массы.

Однородность массы определяли согласно ОФС.1.4.2.0009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных форм» Государственной фармакопеи XIV издания, соответствует ОФС.1.4.2.0009 «Однородность массы дозированных лекарственных форм» Государственной фармакопеи XV издания.

Определяли среднюю массу взвешиванием 20 единиц дозированной лекарственной формы или содержимого 20 индивидуальных упаковок однодозовых лекарственных форм: взвешивают каждую единицу в отдельности с точностью до 0,001 г, и рассчитывают среднюю массу и отклонение от средней массы.

Однородность дозирования

Для определения равномерности распределения действующих веществ по отдельно взятым единицам лекарственной формы используют метод 1

ОФС.1.4.2.0008 «Однородность дозирования» Государственной фармакопеи XV издания. Так как содержание действующих веществ менее 25 мг и менее 25%, применяют способ прямого определения, который заключается в количественном определении содержания действующих веществ в каждой отобранный для испытания единице лекарственной формы. Каждый полученный результат выражают в процентах от номинального содержания действующих веществ в одной капсule.

Микробиологические исследования

Исследования проводили согласно требованиям ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота» Государственной Фармакопеи XIV издания. Разработанные лекарственные препараты должны соответствовать категории ЗА.

Фармакологические методы исследования

Постановка модели сахарного диабета 2 типа.

Для постановки сахарного диабета 2 типа, белым крысам самцам – линии Vistar, массой 190-200 грамм однократно внутрибрюшинно вводили раствор аллоксана моногидрата в дозе 150 мг/кг, с предварительным введением 5% раствора никотинамида в дозе 230 мг/кг [3]. На 4-е сутки после введения аллоксана, с целью подтверждения сахарного диабета, у животных забирали каплю крови из хвостовой вены и определяли уровень гликемии с помощью глюкометра Accu-Chek Performa Nano.

Тест на резистентность к глюкозе.

Животным с моделью сахарного диабета, внутрижелудочно, с помощью зонда вводили 5% раствор глюкозы через 60 минут после введения исследуемых составов. Уровень глюкозы в крови измеряли до введения и через 60 минут после введения исследуемых составов, и до введения, и через 30, 60, 120 и 180 минут после введения раствора глюкозы. На время измерения уровня глюкозы в крови, животных лишили корма, вода была в свободном доступе на протяжении всего

времени эксперимента. Тест на резистентность к глюкозе проводили на 7 и 14-ые сутки введения исследуемых препаратов.

Статистические методы исследования

Обработку результатов экспериментальных исследований проводили с применением пакета программ Microsoft Office, согласно Государственной фармакопеи XIV и XV издания. Анализ результатов экспериментальных исследований проводили методами описательной статистики и Т-критерия Вилкоксона. Нормальность распределения данных проверяли с использованием критерия Шапиро – Уилка. Анализ результатов, имеющих нормальное распределение данных, проводили с использованием Т-критерия Стьюдента, при ненормальном распределении данных использовали U-критерий Манна – Уитни.

2.3 Дизайн исследования

Представленные исследования направлены вопросам технологического обоснования «сквозной» разработки лекарственных средств, начиная от выбора рационального объекта – комбинированной субстанции и заканчивая рациональными оригинальными лекарственными формами антидиабетической направленности действия. В качестве объектов исследования выбраны гликлазид и экстракты лекарственных растений, широко произрастающих и культивируемых в Таджикистане: солодка голая, мята перечная, галега лекарственная, липа сердцевидная, крапива двудомная, медицинские виды шиповника широко известные своими фармакологическими свойствами, в том числе благоприятно влияющие на течение сахарного диабета.

Для решения данной проблемы были выполнены исследования, методологическая схема которых позволяет использовать комплексный подход к исследованиям – рисунок 2.1.

Дизайн исследования состоит из комплексных блоков: информационного и экспериментального. Информационный блок играет важную роль на каждом

этапе экспериментальной разработки, обеспечивая теоретическое обоснование материально-технических и технологических решений. Таковыми является обоснование растительных объектов с последующим подтверждением выбора с помощью фармакологической модели и компьютерного моделирования, выбор базовых вспомогательных веществ в процессе конструирования лекарственных форм.

Центральным являются технологические исследования экспериментального блока, состоящие из исследований, посвященных разработке на первом этапе микрокапсул с конструированием на их основе пролонгированных лекарственных форм: спансулы и матричных таблеток. Отдельным этапом экспериментального блока технологических исследований является разработка саше-гранул.

Экспериментальное обоснование технического оптимума разработанных составов проведено с использованием биофармацевтических, технологических методов, а также фармакопейных методов анализа технологических параметров качества лекарственных форм.

Отдельная роль в экспериментальном блоке посвящена подтверждению специфической активности на фармакологической модели сахарного диабета *in vivo*, что так же позволяет сделать обоснованный вывод о рациональном выборе как лекарственных форм, так и технологических решений их получения.

Предложенные аналитические методы «сквозного» физико-химического анализа по двум основным компонентам: солодка и гликлазид позволяют обосновать и подтвердить сроки годности разработанных лекарственных форм: спансулы, матричных таблеток, саше-гранул. Кроме того, также рассмотрены вопросы стандартизации микрокапсул оригинальной комбинированной субстанции по двум основным компонентам. Логичным завершением экспериментального блока исследований является технологическая апробация и разработка нормативной документации – лабораторного регламента.

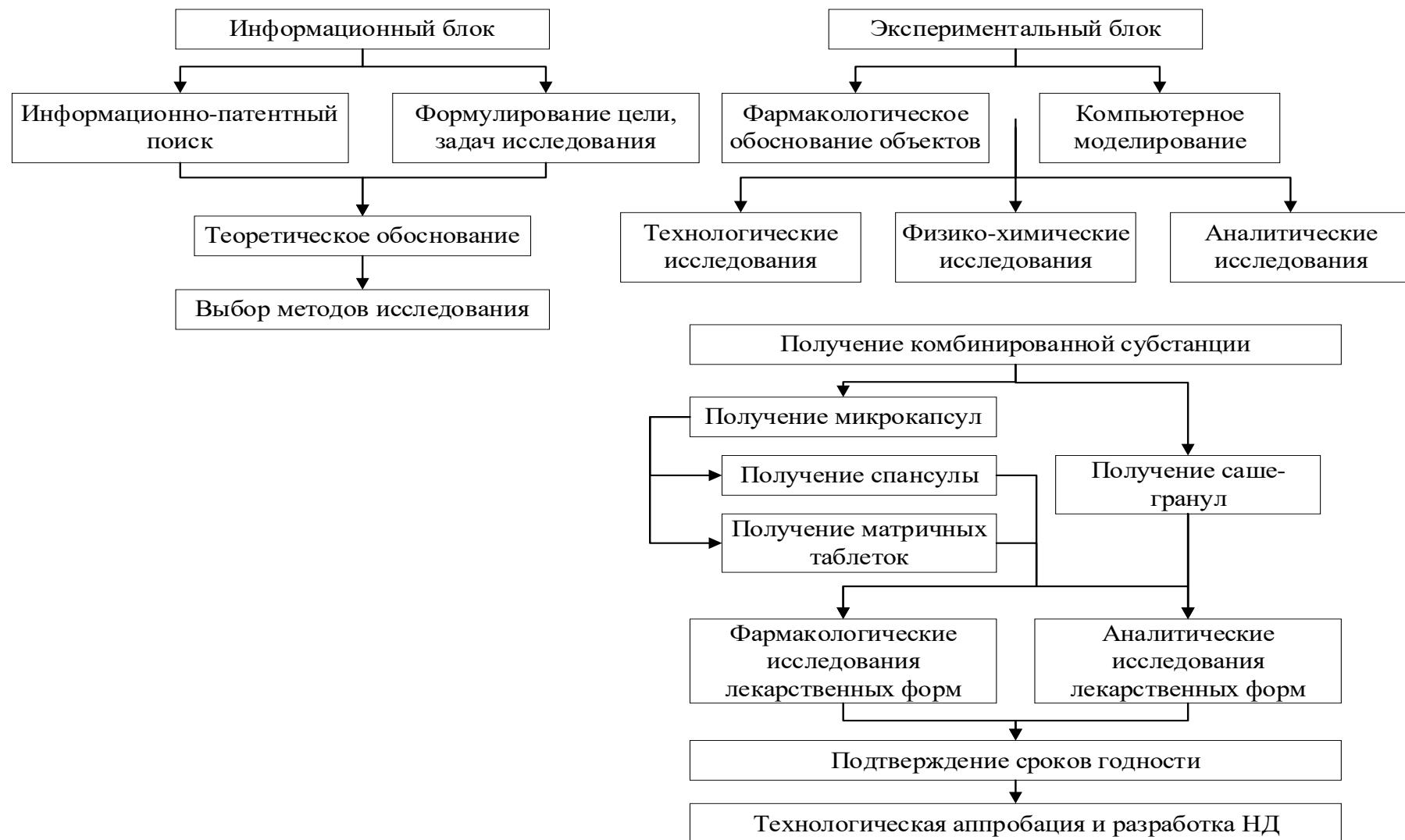


Рисунок 2.1 – дизайн исследования

ГЛАВА 3 РАЗРАБОТКА И ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ОПТИМАЛЬНОЙ ФИТОКОМПОЗИЦИИ

Учитывая стремительные темпы роста заболеваемости сахарным диабетом, особенно инсулиннезависимой формой, разработка сахароснижающих средств на базе лекарственных растений, в том числе их возможная комбинация с уже существующими синтетическими противодиабетическими средствами, является актуальным направлением фармацевтической технологии. Лекарственные растения являются важным источником биологически активных веществ для разработки лекарственных препаратов, направленных на терапию сахарного диабета, учитывая воспроизводимость и доступность сырьёвой базы.

На сегодняшний день видовой состав дикорастущих лекарственных растений в Республике Таджикистан составляет более 1500 видов используемых в народной медицине и свыше 150 видов применяемых или рекомендованных к применению в медицинской практике, среди которых достаточно большое количество лекарственных растений с установленным фитохимическим составом и уже изученным механизмом гипогликемического действия. В качестве наиболее удачных моделей можно назвать: чернику, фасоль, одуванчик, крапиву, шиповник, зверобой, галегу, мяту, лопух, землянику, бузину, абрикос [4-8]. Названные растения интересны не только отстроенным надежным механизмом, но и технолого-экономическими показателями, именно благодаря которым и мог решиться вопрос о выборе некоторых из них в качестве объектов наших исследований.

Диапазонность приведённых в качестве примеров растительных объектов свидетельствует о достаточно широких возможностях выбора настоящих моделей. Прежде всего это конечно результаты фармакологических исследований по поводу гипогликемического действия. И здесь, конечно, доминируют солодка голая и галега лекарственная. Что касается общего богатства фитохимического состава, которое очень значимо при лечении и профилактике сахарного диабета, то наиболее разнообразным фитосоставом обладает шиповник крапивы и мяты.

При рассмотрении сырьёвой базы, которая будет определять технолого-экономическую направленность нашего лекарственного препарата, можно назвать шиповник, липу, одуванчик и абрикос. Если говорить о широте спектра в отношении использования этих растений в различных сферах народного хозяйства, то здесь, конечно, можно отметить чернику, фасоль, землянику, абрикос, и прежде всего солодку, которая всегда была важнейшим предметом экспорта и использовалась широко в кондитерской и химической промышленности, то есть это растение номер один для Таджикистана. Поэтому мы строили свой выбор основываясь на этих центральных и дополняющих друг друга качествах лекарственных растений.

3.1 Характеристика лекарственных растительных объектов

3.1.1 Характеристика солодки: химический состав, фармакологическая активность

Род солодка семейства Бобовые (*Fabaceae*) насчитывает порядка 20 видов растений, в медицинских целях применяется солодка голая (*Glycyrrhiza glabra L.*) и солодка уральская (*Glycyrrhiza uralensis*). Лекарственные виды солодки достаточно широко распространены в России и странах Центральной Азии: Казахстан, Кыргызстан, Узбекистан, Туркменистан. На территории республики Таджикистан солодка голая активно культивируется, образуя сплошные заросли на юге Хатлонской области с целью дальнейшей переработки и экспорта [9]. В медицинских целях используют корни и корневища растений 3-4-летнего возраста, сырьё заготавливают ранней весной или осенью. Корень солодки обладает такими эффектами, как: противовоспалительный, противовирусный, антибактериальный, антиоксидантный, гипогликемический, антиастматический, противоопухолевый, иммуномодуляторный, гастропротективный, гепатопротективный, нейропротективный, кардиопротективный [10,11].

Такая широкая направленность фармакологического действия обусловлена уникальным фитохимическим составом. Основной группой биологически активных веществ, содержащихся в корне солодки являются сапонины и наиболее значимым является глицирризин и его многочисленные производные, содержание которого в солодке голой достигает до 23%, а в солодке уральской до 20%.

Не менее важной группой активных веществ лекарственных видов солодки являются флавоноиды, содержание которых достигает 4%. Среди флавоноидов солодки наиболее важны производные флавонола и халкона – ликуразид, кемпферол, ликвиритозид, ликвиритин, изоликвиритин, неоликвиритин, рамноликвиритин, уралозид, рамноизоликвиритин, кверцетин, апигенин, а также глабридин, содержание которого составляет 11% от общего количества флавоноидов.

Помимо сапонинов и флавоноидов в корне солодки содержатся большие количество моно- и дисахаридов (до 20%), крахмала (до 34%), пектинов (до 6%), смол, горьких веществ, фенолкарбоновых кислот и их производных. Содержание кумаринов достигает 2,6%, дубильных веществ до 14%, обнаруживаются алкалоиды, эфирное масло (до 0,03%), органические кислоты (винная, лимонная, яблочная, фумаровая), тритерпеноиды [12-16].

Несмотря на достаточно хорошо изученный химический состав и фармакологическую активность препаратов солодки, исследования в области механизмов действия биологически активных веществ солодки активно продолжаются.

Глицирризин и его производные ингибируют продукцию простагландина E2, каскад NF_κB, толл-рецепторы, подавляют продукцию ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13, что приводит к противовоспалительному действию

Установлено, что микробиота человека катализирует гидролиз глицирризина до глицирризиновой кислоты (эноксолона) – пентациклического тритерпеноида, который в свою очередь проявляет противовирусные, противогрибковые, антипротозойные, антибактериальные свойства, заживляет

повреждения слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и способствует эрадикации *H. Pylori*.

Что касается антибактериальных свойств, исследования *in vitro* показали, что глицирретиновая кислота может значительно снижать экспрессию ключевых генов вирулентности в устойчивых к метициллину штаммах *S. aureus* и проявлять сильную активность против штаммов *C. albicans* в качестве Th1-иммунологического адьюванта [17-19].

Следует отметить, что на сегодняшний день, активно изучается влияние экстрактов корня солодки на метаболические заболевания, и особенно на терапию сахарного диабета. В экспериментах *in vivo* установлено, что глицирризиновая кислота проявляет гипогликемический эффект, приводя к повышению чувствительности тканей к инсулину; снижению уровней глюкозы, триглицеридов, общего холестерина, липопroteинов низкой плотности в крови экспериментальных животных, и к увеличению содержания липопroteинов высокой плотности.

Флавоноиды содержащиеся в экстракте солодки положительно влияют на течение сахарного диабета, так глабридин оказывает гипогликемическое действие, предупреждает развитие сосудистой дисфункции при сахарном диабете, ликвиритигенина предупреждает поражение кардиомиоцитов, а ликвиритигенин предупреждает развитие остеопатии [20,21].

В исследовании [22] установлено, что глабридин повышает уровень толерантности к глюкозе за счёт регулирования содержания антиоксидантных ферментов в печени, почках и поджелудочной железе.

Исследования по получению экстрактов солодки и их противодиабетической активности показали, что этанольный экстракт солодки голой содержит как минимум четыре гидрофобных флавоноида: глабридин, глабрен, глаброл и 4'-О-метилглабридин. В исследовании *in vivo* данный экстракт увеличивает секрецию инсулина. Водный экстракт в большей степени обладает антигликирующим потенциалом, который является основным фактором, способствующим развитию диабетических осложнений. Метанольный экстракт

солодки голой подавляет гликирование белков и ингибитирует протеинтирозинфосфатазу 1В, являющуюся перспективной мишенью в терапии сахарного диабета. Метанольный экстракт солодки уральской дозозависимо ингибирует а-глюкозидазу, которая регулирует постпрандиальный уровень глюкозы в крови [23,24].

Таким образом богатейший фитохимический состав, широта использования и перспективы свидетельствуют о целесообразности использования данного растения в качестве основной действующей единицы при составлении фитокомпозиции антидиабетического действия.

3.1.2 Характеристика галеги лекарственной: химический состав, фармакологическая активность

Галега лекарственная (*Galega officinalis* L.) или козлятник аптечный – многолетнее травянистое растение сем. бобовых (Fabaceae). Стебли многочисленные голые, ветвистые, высотой 70-80 см, листья сложные, непарноперистые с 5- 10 парами продолговатых линейноланцетовидных листочков. Цветки многочисленные на цветоножках в густых верхушечных кистях. Флаг у цветка фиолетово-синий, крылья и лодочки белые. Плоды многосемянные цилиндрические двустворчатые бобы на ножках с косо полосатыми створками. Галега лекарственная имеет широкий ареал произрастания и широко культивируется в южных и юго-восточных районах СНГ, встречается в европейской части Российской Федерации, на северном Кавказе, культивируется в республике Башкортостан. На территории республики Таджикистан, галега лекарственная широко распространена как в дикорастущем, так и в культивируемом виде [25-28].

Для галеги характерен достаточно широкий диапазон фармакологической активности, связанный с содержанием различных классов биологически активных веществ. Надземная часть растения содержит фенольные соединения (преимущественно мономерные формы), флавоноиды, полисахариды,

каротиноиды и витамины, дубильные вещества, сапонины, фенолкарбоновые кислоты и их производные, азотсодержащие вещества, жирное масло и высшие жирные кислоты (пальмитиновую и линоленовую). Анализ компонентного состав летучих веществ отличается большим разнообразием и представлен 46 соединениями – это, в основном, терпеновые спирты, альдегиды и кетоны. В составе летучих соединений галеги идентифицирован хиназолиновый алкалоид вазицинон, оказывающий бронхолитическое, отхаркивающее, антиспазматическое и антисептическое действие [29-31].

Одним из первых изученных фармакологических эффектов галеги является противодиабетический. В 1920-х годах было установлено, что гуанидиновый алкалоид галегинин – активный компонент, содержащийся в траве галеги лекарственной, обладает выраженным пролонгированным сахароснижающим эффектом, что стало основанием для синтеза на его основе нескольких противодиабетических соединений, в частности, метформина [32,33]. На сегодняшний день галега лекарственная не является фармакопейным растением, однако используется в качестве сырья для производства биологически активных добавок, рекомендуемых к применению больными сахарным диабетом. Тем не менее, изучение антидиабетических свойств козлятника продолжается. На сегодняшний день доказано снижение концентрации глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови животных на фоне введения экстракта галеги, а также повышение толерантности клеток к глюкозе, увеличение содержания С-пептида и инсулина в плазме крови. В исследованиях *in vivo* подтверждено цитопротекторное действие экстракта козлятника лекарственного на клетки поджелудочной железы, выраженное в увеличении числа островков Лангерганса, их средней площади, диаметра, объема и количества β -клеток [33,34]. Установлено, что экстракт галеги лекарственной регулирует связанные с сахарным диабетом нарушения функции пролиферации и апоптоза лейкоцитов, тем самым обладая выраженным иммунокорректирующим действием [35,36].

Таким образом, несмотря на недостаточную изученность данного растения, мы решили остановиться на этом объекте потому, что он является косвенным

источником метформина. Этот показатель обеспечивает перспективу на выраженный противодиабетический эффект данного растения, как одного из составляющих фитокомпозиции.

3.1.3 Характеристика крапивы двудомной: химический состав, фармакологическая активность

Крапива двудомная (*Urtica dioica L.*) – многолетнее травянистое растение семейства крапивных. Крапиву можно отнести к сильно изменчивому космополитному растению, произрастает на всей территории Российской Федерации, кроме крайнего севера. Широко распространена на территории республики Таджикистан. Растение имеет полый, прямостоячий, четырехгранный стебель высотой до 120 см, с удлиненным корневищем, листья супротивные, равносторонние, длинночерешковые, простые, цельные, тёмно-зелёного цвета. Цветки мелкие, зеленоватые актиноморфные, четырёхмерные с плоским цветоложем. Все части растения густо покрыты жгучими волосками [37-40].

Крапива двудомная является официальным лекарственным растением, в качестве сырья используют листья. Препараты листьев крапивы двудомной применяют как кровоостанавливающее средство, данный эффект связан содержанием больших количеств витамина K1. За счёт содержания биогенных аминов препараты крапивы двудомной повышают сократительную способность гладкой мускулатуры матки. Кроме того, препараты крапивы стимулируют эритропоэз за счёт содержания солей железа и большого количества хлорофилла и применяются как средство профилактики и лечения авитаминозов и анемии. Крапива двудомная входит в состав препарата «Аллахол». Наряду с приведёнными показаниями препараты из сырья крапивы двудомной применяют как противолихорадочное, ранозаживляющее, противомикробное, противоязвенное и противовоспалительное средство, средство для коррекции метаболических нарушений при сахарном диабете, а также при иммунодефицитах [41,42].

Крапива двудомная содержит порядка пятидесяти биологически активных веществ липофильной и гидрофильной природы, химическая структура которых известна. Листья крапивы содержат гликозид уртицин, дубильные вещества, органические кислоты (лимонную, молочную, муравьиную, фумаровую, хинную, щавелевую, янтарную), протопорфирин, копропорфирин, кверцетин, ситостерин, гистамин, воск, витамины: В2, В3, или пантотеновую кислоту, К (до 4%), Е, С, значительное количество каротиноидов: β -каротин, ксантофилл, ксантофиллэпоксид, виолаксантин, хлорофилл (2-5%), сквален [43-45].

Помимо витаминов крапива двудомная содержит такие полезные для здоровья человека соединения, как аминокислоты (до 2%) (цистин, триптофан, аргинин, глицин, тирозин, аспарагиновая кислота, гистидин, серин, глутаминовая кислота, пролин, аланин), в том числе и незаменимые аминокислоты (лизин, метионин, валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, треонин), жирные кислоты (стеариновая, пальмитолеиновая, линолевая и др.), [46,47].

Микроэлементный комплекс крапивы двудомной составляет 7,68 % в пересчёте на абсолютно сухое сырьё. Наибольшее содержание в листьях отмечено для элементов – К, Ca, P, Mg, Cu, Fe, Mn, Sr, Se, Al, Ba, Zn и В. Можно отметить высокое содержание фосфора и марганца. Следует высокое содержание Mo, который стимулирует образование гемоглобина, а также влияет на пуриновый обмен и отложение солей в организме. Среди микроэлементов особую группу составляют эссенциальные микроэлементы 12,68 % общего минерального состава листьев крапивы двудомной. Среди них наибольшее содержание отмечено для кремния (более 9,2 мг/г) и железа (более 0,3 мг/г). Макроэлементы составляют 86,87 % всего элементного состава листьев крапивы двудомной. Основными элементами данной группы являются калий (более 26,5 мг/г) и кальций (более 26 мг/г). [48-50].

Содержащиеся в крапиве двудомной β -ситостерин, трансферуловая кислота, дотриаконтан, эруковая кислота, урсоловая кислота, скополетин, рутин, кверцетин могут применяться в профилактических или терапевтических целях при инфекционных и неинфекционных заболеваниях [51].

В листьях крапивы двудомной идентифицированы такие оксикоричные кислоты, как 3,4-диоксикоричная (кофейная), 3,5-диметокси-4-оксикоричная (синаповая), хлорогеновая (является преобладающей), 3-метокси-4-оксикоричная (феруловая), транскоричная и фенолкарбоновая кислота – 3,4,5-триоксибензойная (галловая). Установлено наличие веществ флавоноидной природы, из которых идентифицированы: кверцетина-3-рутилизид, кемпферола-3-рутилизид, изорамнетин-3-рутилизид, среди распознанных флавоноидов: рутин (преобладающий), кверцетин, гиперозид. [52-55].

Согласно исследованиям R. Semwal с соавт., крапива двудомная представляет собой многообещающее растение с нейропротекторным потенциалом, особенно при нейродегенеративных расстройствах, связанных с диабетом и болезнью Альцгеймера. Нейропротекторная активность связывают с антиоксидантной активностью биологически активных веществ крапивы, способностью ингибировать воспаление и предотвращать накопление полигликозилированных белковых агрегатов в головном мозге, а также за счёт усиления защитной сигнализации. В исследованиях *in vivo* было установлено, что крапива двудомная оказывает нейропротекторную активность посредством модуляции различных воспалительных и биохимических маркеров, таких как: TNF- α , IL-1 β , NF-кB, GSH, CAT [56]. В исследованиях R. Dhouibi с соавт., установлена анальгетическая активность водно-спиртового экстракта крапивы двудомной. По мнению авторов, присутствие в этом растении различных соединений (полифенолов, флавоноидов и тритерпенов), может объяснить эту активность и частично объяснить механизмы его действия, за счёт ингибирования синтеза метаболитов арахидоновой кислоты, высвобождения простагландинов и других противоспалительных цитокинов. Авторами отмечено, что сквален (тритерпеновый антиоксидант), обнаруженный в экстракте крапивы, может отвечать за проявление обезболивающего эффекта [57].

Помимо описанных фармакологических эффектов биологически активных веществ, содержащихся в крапиве двудомной, отдельно стоит отметить их

антидиабетический потенциал, активное изучение которого продолжается последние десятилетия.

Такие биологически активные вещества содержащиеся в крапиве двудомной, как феруловая кислота может заметно снижать уровень глюкозы в крови, восстанавливать изменения в передаче сигналов инсулина, улучшать высвобождение воспалительных цитокинов и снижать экспрессию протеинтирозинфосфатазы 1B, транс-коричная кислота, которая может улучшить функциональность β -клеток поджелудочной железы, стимулировать секрецию инсулина и усиливать снижение поглощения глюкозы в ходе глюконеогенеза в печени, галловая кислота и п-кумаровая кислота улучшают толерантность к глюкозе, улучшают антиоксидантный статус, повышают уровень мРНК PPAR γ , адипонектина, снижают уровень TNF- α и параметры липидного профиля, хлорогеновая кислота, также обладает гипогликемическими, гиполипидемическими, противовоспалительными и антиоксидантными свойствами [58,59]. Так, в исследовании *in vivo* и *in vitro* установлено влияние экстрактивных веществ крапивы двудомной на поглощение глюкозы скелетными мышцами за счёт транслокации транспортера глюкозы-4 (GLUT4) в мышечные клетки, а также снижение резистентности к инсулину, повышение чувствительности к инсулину, снижение уровня триглицеридов и холестерина, и улучшение функционирования β -клеток поджелудочной железы. [60]. В исследовании [61], подтверждено, что водный экстракт листьев крапивы оказывает значительное антигиперglyкемическое действие, которое может быть вызвано снижением всасывания глюкозы в кишечнике.

В исследовании [62], вводимые перорально мышам с диабетом экстракты крапивы, проявляли гипогликемические и гиполипидемические эффекты за счёт снижения веса печени и улучшения активности печёночных ферментов, таких как фруктозо-1,6-бисфосфатаза, гексокиназа, глюкоза-6-фосфатаза, фософруктокиназа, щелочная фосфатаза, аланинаминотрансфераза и аспартатаминотрансфераза, по сравнению с контрольной группой. Экстракты привели к увеличению количества антиоксидантных ферментов, таких как

супероксиддисмутаза, каталаза, и снижению содержания глутатиона. Исследуемые экстракты повышали уровень инсулина в сыворотке и ингибировали гликований гемоглобин (HbA1c). В культуре β-клеток поджелудочной железы, экстракты также оказывали протекторное и противодиабетическое действие.

Из приведённых данных видно, что крапива является изученным и очень значимым для современной медицины лекарственным растением. Практически нет ни одного медицинского направления, в котором бы не было задействовано это лекарственное растение, однако при анализе противодиабетических свойств крапивы у нас возникли сомнения, связанные с возможностью ее использования в фитокомпозиции.

3.1.4 Характеристика мяты перечной: химический состав, фармакологическая активность

Мята – название рода растения семейства Яснотковых (Lamiaceae), насчитывающего более 50 видов. Для мяты характерен полиморфизм видов, образуя естественные гибридные формы, отличающиеся формой листьев, строением и типом соцветий, величиной и соотношением длины чашечки и венчика, длиной тычинок и столбика. Ареал произрастания мяты находится в умеренном поясе Северного полушария. Несмотря на широкое распространение разные виды мяты, на сегодняшний день активно культивируются. Так в Таджикистане в природных условиях произрастает более 10 видов мяты, в культуре чаще всего возделывается мята перечная (*Mentha piperita Linn.*). Надземная часть мяты перечной – вертикальный, четырехгранный, густооблиственный, ветвистый, покрытый по граням редкими волосками травянистый стебель, за вегетационный период, достигающий высоты 110 см, иногда более, ежегодно отмирающий. На главном побеге при нормальной густоте стояния формируются до 25 боковых побегов. Каждая ветвь заканчивается колосовидным соцветием розовой или сиреневой окраски [63-65].

Мята перечная нашла широкое применение в медицинской практике как эффективное спазмолитическое, антисептическое средство. Препараты мяты оказывают тонизирующее действие на центральную нервную систему, стимулируют работу мозга, укрепляют память, способствуют восстановлению нервной системы после черепно-мозговых травм и нейрохирургических операций. Мята способствует нормализации артериального давления, компенсации сердечной деятельности при недостаточности кровообращения, атеросклерозе сосудов мозга, ишемической болезни сердца. Водные извлечения из листьев мяты перечной используют при воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей как отхаркивающее средство. Высокая значимость мяты перечной для медицины определяется наличием в надземной части растения до 3%, а в соцветиях – до 6% эфирного масла, преобладающим компонентом эфирного масла является монотерпеновый спирт ментол (45–70%). Ментол обладает слабыми местноанестезирующими свойствами, стимулирует холодовые рецепторы кожи и слизистых тканей, является слабым антисептиком. Помимо ментола к основным компонентам эфирного масла мяты являются цитраль, корвакрол, камфара, эвгенол, ментон (10–25%), пинен, лимонен, тимол, эфиры ментола уксусной и валериановой кислот. В листьях мяты перечной содержатся каротин (до 40%), гесперидин, бетаин, урсоловая (0,3%) и олеаноловая (0,12%) кислоты. Кроме того, листья мяты перечной богаты такими макроэлементами как: калий, кальций, магний, железо, и микроэлементами: марганец, медь, цинк, кобальт, селен, стронций [66-69].

В исследовании [70] установлено дозозависимое ингибирование назальной реакции у крыс при введении экстракта мяты перечной, что может быть клинически полезным для облегчения назальных симптомов аллергического ринита. При анализе настойки мяты [71] и экстракта надземной части мяты перечной, полученного 50% этиловым спиртом, выделено и идентифицировано шесть флавоноидных гликозидов: эриоцитрин, нарирутин, гесперидин, лютеолин-7-O-рутинозид, изориофолин, диосмин, розмариновая кислота и 5,7-дигидроксикромон-7-O-рутинозид. Лютеолин-7-O-рутинозид в эксперименте на

животных продемонстрировал мощный ингибирующий эффект на высвобождение гистамина из тучных клеток, превышающий эффект лютеолина и лютеолин-7-О-глюкозида [70, 72, 73].

Aldoghachi F.E.H. предложена схема получения и очистки экстракта мяты перечной, с целью повышения выхода розмариновой кислоты (до 1,9 мг/мл). Розмариновая кислота защищает от повреждающего воздействия ионизирующего излучения, действуя как радиопротектор и антиоксидант, за счёт удаления свободных радикалов и хелатирующим действием металлов. [74].

На сегодняшний день активно изучается влияние препаратов мяты перечной на течение сахарного диабета [75, 76]. Так, антидиабетический эффект мяты перечной связан с ингибированием АТФ-чувствительных К⁺-каналов на мемbrane β-клеток, усилением экзоцитоза инсулина под действием ментола. Кроме того, ментол повышает выживаемость β-клеток, стимулируя экспрессию Bcl-2, антиапоптотического фактора и защищает β-клетки поджелудочной железы от апоптоза в модели диабета у крыс [77, 78]. Кроме того, гипогликемический эффект экстракта мяты связывают с ингибирующим действием на α-амилазу и α-глюкозидазу, что, в свою очередь, оказывает значительное ингибирующее действие постпрандиальной гипергликемии [79].

Рассматриваемые нами хорошо известный фитообъект – мята перечная оказался для нас очень заманчивым, поскольку последние исследования показали, что экстракты мяты имеют достаточно выраженный антидиабетический эффект. Эта перспектива не могла не оказать влияния на наш выбор. Диапазон использования мяты перечной связан не только с её вновь определившимися показателями, это растение оказывает тонизирующее действие на ЦНС способствует восстановлению организма после черепно-мозговых травм, нормализует артериальное давление. И указанные показатели достаточно перспективны, в отношении последствий сахарного диабета, которые связаны именно с этими реакциями. Кроме того, мята всегда – корrigирующее средство, что для любой фитокомпозиции имеет немаловажную значимость. Поэтому мы

положительно оцениваем это растение и возможность его использования в нашей работе.

3.1.5 Характеристика шиповника: химический состав, фармакологическая активность

Шиповник (*Rosa*) кустарное растение семейства розоцветные (Rosaceae). Данное растение имеет много культурных форм, и включает порядка 400 различных видов. Применяемые в медицинской практике виды шиповника (майский, даурский, собачий, иглистый, щитконосный, войлочный, и др.) широко распространены по всей европейской части СНГ, странах Балтии, центральной и юго-восточной Азии. Это листопадные или вечнозеленые кустарники, способные постепенно и непрерывно вегетативно омолаживаться, оставаясь в продуцирующем состоянии, что является в хозяйственном отношении весьма ценным свойством. Виды шиповников отличаются довольно высокой степенью засухоустойчивости, средней и малой требовательностью к почвам [80].

Плоды шиповника содержат пектины, дубильные вещества, органические кислоты, отдельно стоит отметить высокое содержание в плодах аскорбиновой кислоты, витаминов B₂, P, K₁, токоферолы, однако их количественное содержание зависит от вида, и ареала произрастания. В плодах различных видов шиповника идентифицированы шесть основных каротиноидов: эпимеры неохрома, лютеина, зеаксантина, рубиксантина, ликопина, β-каротина [81]. Плоды богаты минеральными веществами, содержат такие макроэлементы, как: K, Ca, Mg, Fe, и микроэлементы: Mn, Cu, Zn, Mo, Ni [82]. Флавоноидный состав плодов шиповника представлен преимущественно кверцетином, изокверцетином, кемпферолом, рубиксантином, ликопином, в то время как в экстракте шиповника идентифицируются преимущественно: рутин, кверцетин, кофейная, галловая, хлорогеновая и бензойная кислоты [83].

Благодаря достаточно разнообразному фитохимическому составу плоды шиповника обладают такими фармакологическими эффектами как:

противовоспалительный, ранозаживляющий, мочегонный, мощный бактерицидный и фитонцидный. Биологически активные вещества, содержащиеся в плодах шиповника, активизируют ферментные системы и окислительно-восстановительные процессы в организме, повышают сопротивляемость организма к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Препараты из плодов шиповника чаще всего используют при лечении малокровия, артрита, болезней мочеполовой системы, для стимулирования функций половых желез, остановки кровотечения, снижения хрупкости сосудов.

Клинические и экспериментальные исследования показали, что приём шиповника позволяет снизить риск сердечно-сосудистых заболеваний, обладает антиоксидантным действием, снижает уровень холестерина в плазме и ослабляет образование атеросклеротических бляшек в стенке сосудов [84].

На основе экстракта плодов шиповника выпускается сироп с коммерческим названием «Холосас», обладающий выраженным желчегонным эффектом, и применяется в педиатрии для лечения дисфункций билиарного тракта у детей. Желчегонный эффект (усиление образования желчи и желчных кислот) обусловлен содержанием в плодах растения органических кислот (яблочная, лимонная, олеиновая, линолевая, линоленовая) и флавоноидов. Применение сиропа в педиатрической практике свидетельствует о безопасности препаратов шиповника.

Вследствие высокого содержания аскорбиновой кислоты (до 5,5%), плоды шиповника являются ценным источником фитонутриентов, в том числе витаминов, органических кислот, каротиноидов, сахаров (до 18%) и незаменимых жирных кислот, и используются как средство профилактики и лечения широкого спектра заболеваний, включая вирусные инфекции, грипп, дефицит витамина С, сахарный диабет, артрит, радикулит, плохое периферическое кровообращение, желудочно-кишечные расстройства [85,86].

Из всех видов шиповника получают жирное масло, обладающее выраженным заживляющим эффектом, применяемое для лечения повреждений кожных покровов и ожогов. Анализ экстракта жирного масла шиповника показал,

что дерматопротективное действие связано с содержанием витаминов А и Е, а также насыщенных (12,5-13,8%) и ненасыщенных (2,9%) жирных кислот, которые ускоряют репарацию кератиноцитов, сокращая сроки восстановления кожного покрова. Углубленное изучение жирных кислот в составе плодов шиповника показало высокое содержание ненасыщенных жирных кислот с 8 углеродными атомами – олеиновой (до 0,7%), линолевой (до 1,2%) и линоленовой (до 1,2%). Из насыщенных жирных кислот следует отметить значительное содержание пальмитиновой (до 0,3%) и стеариновой (до 0,2%) кислот [87,88].

Исследования A. Nagatomo, и соавт. показали, что тилирозид (ацилированный гликозид кемпферола), основной полифенол семян шиповника собачьего (*Rosa canina L.*), проявляет активность в борьбе с ожирением и сахарным диабетом за счёт усиления окисления жирных кислот в печени и скелетных мышцах. Тилирозид обладает противовоспалительной, антиоксидантной, антиканцерогенной, ингибирующей цитохром Р450, тирозиназной, гепатопротекторной активностью и ингибирует абсорбцию глюкозы [89].

Кроме того, в нескольких клинических исследованиях была изучена эффективность и безопасность шиповника при лечении остеоартрита. Одним из основных механизмов действия является нейтрализация активных форм кислорода и азота антиоксидантными соединениями шиповника. Среди биологически-активных веществ шиповника, обладающих антиоксидантной активностью, наибольший вклад в терапию остеоартрита по мнению J. Gruenwald, и соавт. вносят: фенольные кислоты (протокатеховая, галловая, метилгаллат, ванилиновая, сиреневая, хлорогеновая, цикоровая), антоциан (цианидин-3-О глюкозид), танины, флавоноиды (из них: флавоны – апигенин; флавонолы: рутин, катехин, кверцетин, кверцитрин; флаваноны: гесперидин, эриодиктиол, таксифолин), пентациклические тритерпены (урсоловая и олеаноловая кислоты), органические кислоты (аскорбиновая, яблочная, лимонная кислоты). Кроме того, подтверждено, что шиповник снижает специфичные для остеоартрита воспалительные процессы, включая снижение количества

противовоспалительных цитокинов и хемокинов, снижение передачи сигналов NF-кВ, ингибирирование противовоспалительных ферментов, включая ЦОГ-1, ЦОГ-2, 5-липоксигеназу и индуцируемую NO-синтазу, снижение уровня С-реактивного белка [90,91].

Клинического исследования влияния водного экстракта плодов шиповника собачьего (*Rosa canina L.*) на течение сахарного диабета второго типа показали снижение уровня глюкозы в крови натощак, и общего холестерина в сыворотке крови и липопротеинов-холестерина высокой плотности без каких-либо побочных эффектов у пациентов. В исследовании [92] установлено, что фенольные соединения метанольного экстракта шиповника собачьего проявляют высокую ингибирующую активность в отношении α -амилазы.

На основании результатов клеточных исследований различных фракций экстракта плодов шиповника собачьего установлен новый механизм его антидиабетического эффекта. А именно, регенеративное действие фракции олигосахаридов плодов шиповника на β -клетки поджелудочной железы, как фактора роста клеток [93,94]. Экстрагированная фракция шиповника собачьего представляет собой новый олигосахарид, состоящий из сильно метилированных и ацетилированных галактурановых и арабинановых единиц. Результаты показали, что выделенная фракция представляет собой производное пектина, состоящее из повторяющихся тетрасахаридов с несколькими ацетильными и метоксикарбонильными группами [95,96].

Практически невозможно представить ни одного направления, связанного с народной медициной, где не используется шиповник, а также в отношении использования его в официальном ключе. Широта использования препаратов шиповника, а их на сегодняшний день достаточно много, вполне обоснована. Антидиабетическая активность экстрактов шиповника связана с новым олигосахаридом, химический состав и технология получения которого на данный момент не полностью изучены. Мы пока не предполагаем активно использовать шиповник в этом качестве.

3.1.6 Характеристика липы: химический состав, фармакологическая активность

Цветки липы – лекарственное растительное сырьё, заготавливаемое от двух видов липы: липы сердцевидная (*Tilia cordata* Mill.) и липы широколистная (*Tilia platyphyllos* Scop.). Это листопадные достаточно теневыносливые, засухо- и морозоустойчивые деревесные растения, с широким ареалом произрастания. Липа широко распространена в таких европейских странах как Болгария, Италия, Испания, Финляндии, Швейцарии. На территории Российской Федерации липа встречается как в европейской части страны, так и на территории Южного Урала и Западной Сибири. Липа сердцевидная и широколистная широко распространены и культивируются на территории Таджикистана и имеют достаточно перспективную сырьёвую базу [97,98]. Цветки липы в форме настоев применяются, как потогонное, отхаркивающее, противовоспалительное, иммуномодулирующее, спазмолитическое, болеутоляющее, мочегонное средство, также они обладают антигипоксическим действием [99].

В цветках липы содержится достаточно широкий спектр биологически активных веществ: аскорбиновая кислота, каротин, полисахариды (включающие галактозу, маннозу, глюкозу, рамнозу, арабинозу, ксилозу, галактуроновую кислоту), минеральные элементы (K, Mn, Mg, Ca, Zn, Cr, Fe, Al, Co, Ni, Mo, I, Se), фенолкарбоновые кислоты (хлорогеновая, галловая), сапонины, дубильные вещества [100-102]. Одной из ведущих групп биологически активных веществ в цветках липы является эфирное масло, доминирующими компонентами которого являются: триказан (17-30%) и 6,10,14- trimetil-2-пентадеканон (11-20%), гераниол, карвон, цис-линалоолоксид, линалоол и др. [103,104]. Фенольные соединения содержащиеся в цветках липы представлены флавоноидами и их гликозидами – тилирозид, кемпферол-3-О гликозид, кверцетин, изокверцетин, кемпферол-3-О-рамнозид, кемпферол-3-О-дирамнозид, также содержится флавон – тилианин и флавонолы – гесперидин, тилиацин [105].

Несмотря на разнообразие химического состава биологически активных веществ, традиционное использование препаратов цветков липы недостаточно рационализировано. Известно, что полисахариды из цветков липы образуют прочные биоадгезивные слои на буккальном эпителии, что приводит к регидратации и защите инфицированного эпителия. Эти биоадгезивные свойства потенциально могут объяснить снижение интенсивности кашля и традиционное использование растительного сырья при респираторных заболеваниях. [106,107]. Фенольные соединения, а именно флавонолгликозиды экстракта цветков липы оказывают седативное действие на центральную нервную систему, оказывая влияние на ГАМК-ergicеские и серотонинергические пути [108-110]. Установлено, что экстракт липы снижает моторику кишечника, что так же связано с содержанием флавоноидов [111,112].

Гликозидный флавоноидный эфир – тилирозид, содержащийся в цветках липы и впервые выделенный в 1961 году, оказывает широкий спектр воздействия на организм человека, проявляя антитромботическую, антикоагулянтную, гепатопротекторную, противомикробную, противовоспалительную и антипролиферативную активность. Также, тилирозид значительно ингибирует увеличение массы тела и накопление жировой ткани у мышей, а также снижает концентрацию жирных кислот и триглицеридов в крови [113-115]. Кроме того, в экспериментах *in vivo* установлено наличие гипогликемического эффекта экстракта липы [116], связанного с содержанием в его составе гликозидных флавоноидов, в том числе тилирозида, вызывающих ингибирование переваривания углеводов и всасывания глюкозы в ЖКТ [117].

Особенно интересны результаты изучения гипогликемического эффекта экстракта липы на основе её гликозидных флавоноидов. Однако эти экстракты, столь перспективные, имеют некоторые побочные эффекты, связанные с седативным действием препаратов. Использование липы в антидиабетической композиции требует некоторых дополнительных исследований.

В отношении цветков липы: помимо широкого фармакологического спектра, она ещё отличается высокой сырьёвой базой.

3.2 Составление фитокомпозиции и ее фармакологическое обоснование

3.2.1 Изучение антидиабетической активности фитокомпозиции *in vivo*

На основании проведённого анализа литературных данных, были составлены модельные композиции фитосубстанций, содержащих сухие экстракты солодки, галеги, крапивы, шиповника, липы, мяты. В качестве основного компонента состава 1 был выбран сухой экстракт галеги лекарственной, в составе 2 главный акцент был сделан на экстракте солодки голой, состав 3 преимущественно состоял из равных частей экстрактов шиповника и крапивы – таблица 3.1.

Таблица 3.1 – Модельные составы фитокомпозиций

Состав	Соотношение компонентов, %					
	Галега	Солодка	Липа	Мята	Шиповник	Крапива
1	60	30	10	-	-	-
2	10	60	-	30	-	-
3	10	10	-	-	40	40

Определение специфической активности предложенных композиций фитосубстанции проводили на крысах самцах *Wistar* с аллоксан-индуцированной моделью сахарного диабета второго типа. Методика постановки аллоксанового сахарного диабета второго типа представлена в главе 2, схема проведения фармакологического исследования, представлена на рисунке 3.1.

Методом парных аналогов было сформировано 5 групп животных ($n=9$) с сахарным диабетом, с концентрацией глюкозы в крови более 20 ммоль/л, также была сформирована 6 группа интактных животных ($n=9$) без сахарного диабета с целью мониторинга нормального уровня глюкозы. В качестве препарата сравнения использовали субстанцию гликлазида.

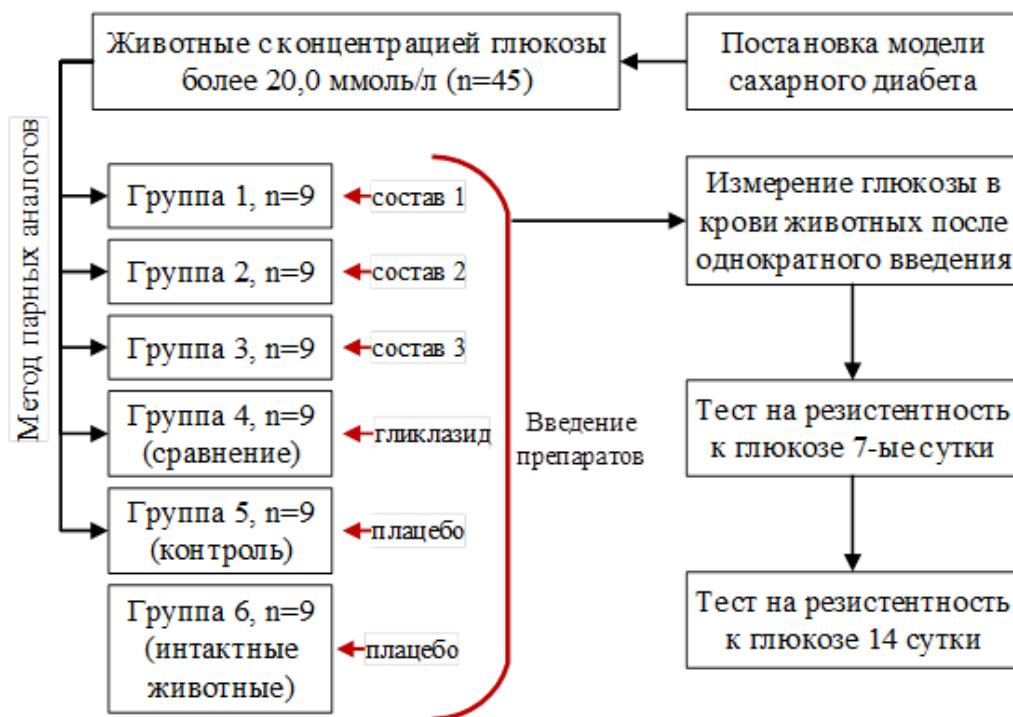


Рисунок 3.1 – Дизайн исследования специфической активности фитосубстанции

Исследуемые препараты вводили, предварительно растворив в воде очищенной, гликлазид в виде водной суспензии. Группе 1 вводили состав 1 в дозе 600 мг/кг, группе 2 – состав 2 в дозе 500 мг/кг, группе 3 – состав 3 в дозе 1000 мг/кг, группе 4 вводили субстанцию гликлазида – 60 мг/кг, группам 5 и 6 вводили эквивалентное по объёму исследуемым препаратам количество воды очищенной в качестве плацебо. Расчёт доз проводили с учётом соответствующих коэффициентов пересчёта.

Оценку гипогликемического действия фитосубстанций проводили после однократного перорального введения (рисунок 3.2), и на фоне ежедневного введения в течении 14 суток, с проведением теста на резистентность к пероральному введению глюкозы на седьмые (рисунок 3.3) и четырнадцатые (рисунок 3.4) сутки.

Исходный уровень глюкозы в крови животных с сахарным диабетом значимо не отличался, и находился в диапазоне от 22,4 до 23,4 ммоль/л, концентрация глюкозы в крови интактных животных составляла 6,9 ммоль/л.

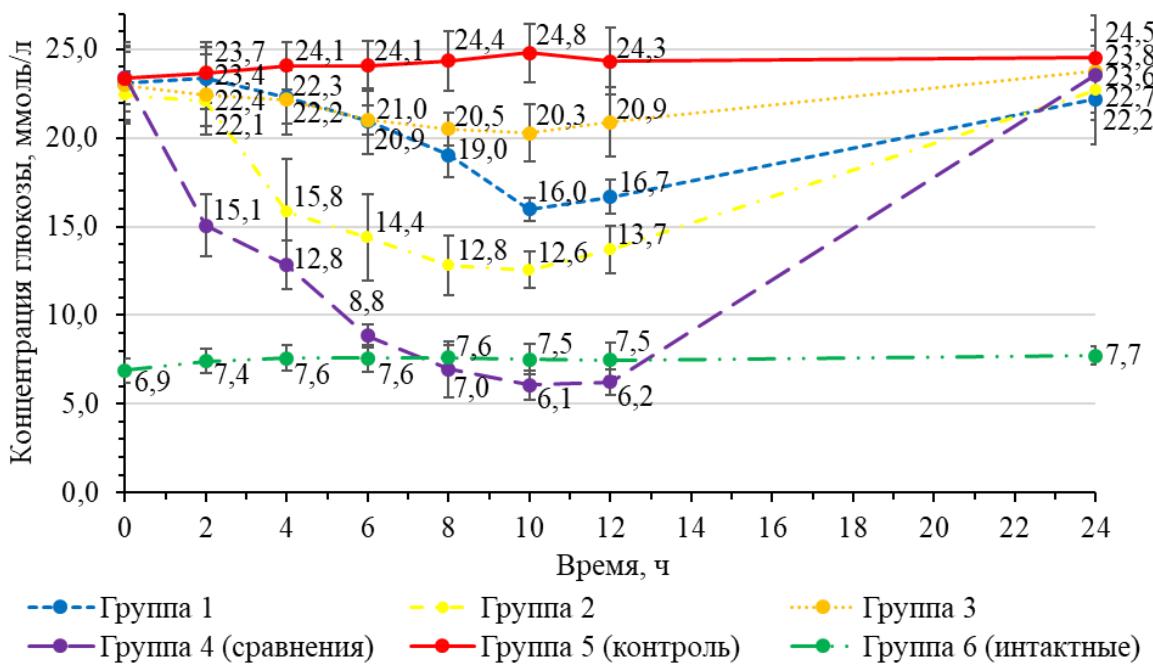


Рисунок 3.2 – Динамика изменения концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных, после однократного введения препаратов

Статистически значимое снижение концентрации глюкозы в крови животных после однократного введения исследуемых препаратов наблюдалось: в группе 1 через 10 часов на 30,7% ($p<0.05$), в группе 2 через 4 часа на 29,4% ($p<0.05$), в группе 3 через 8 часов на 10,8% ($p<0.05$), в группе 4 через 2 часа на 35,5% ($p<0.05$). В группе 5 концентрация глюкозы на протяжении всего эксперимента находилась на высоком уровне, при этом отмечено повышение концентрации глюкозы в течении первых 10 часов мониторинга ($p <0.05$). В группе 6 концентрация глюкозы в крови животных оставалась на физиологическом уровне на протяжении всего времени эксперимента. Максимальное снижение концентрации глюкозы в крови животных, получающих фитокомпозиции (в % от исходного уровня) составляло: группа 1 – 30,7%, группа 2 – 43,75%, группа 3 – 11,7%.

После однократного введения наиболее активно сахароснижающий эффект развивался у животных получавших фитокомпозиции состава 1 и 2. При этом стоит отметить, фитосубстанция состава 2, богатая экстрактом солодки,

демонстрирует значительное снижение концентрации глюкозы в крови животных ($p < 0.05$), что связано с сахароснижающим эффектом ее глициризиновой кислоты и флавоноидов, механизмы действия которых изложены в подразделе 3.1.1.

Стоит отметить, что средние значения концентрации глюкозы в крови животных, получающих фитосубстанции, в интервале 2-12 часов, имеют статистически значимые отличия от контрольной группы ($p < 0.05$). Однако достижение физиологического уровня глюкозы в группах 1, 2 и 3 не наблюдалось. Также, не наблюдался уровень антидиабетической активности фитопрепаратов сопоставимый с гликлазидом (группа 4).

Дальнейшее исследование было посвящено изучению накопительного эффекта характерного для фитопрепаратов. На рисунке 3.3 представлены результаты теста на резистентность к пероральной глюкозе на введение фитосубстанции в течение семи суток. Методика проведения теста представлена в главе 2.

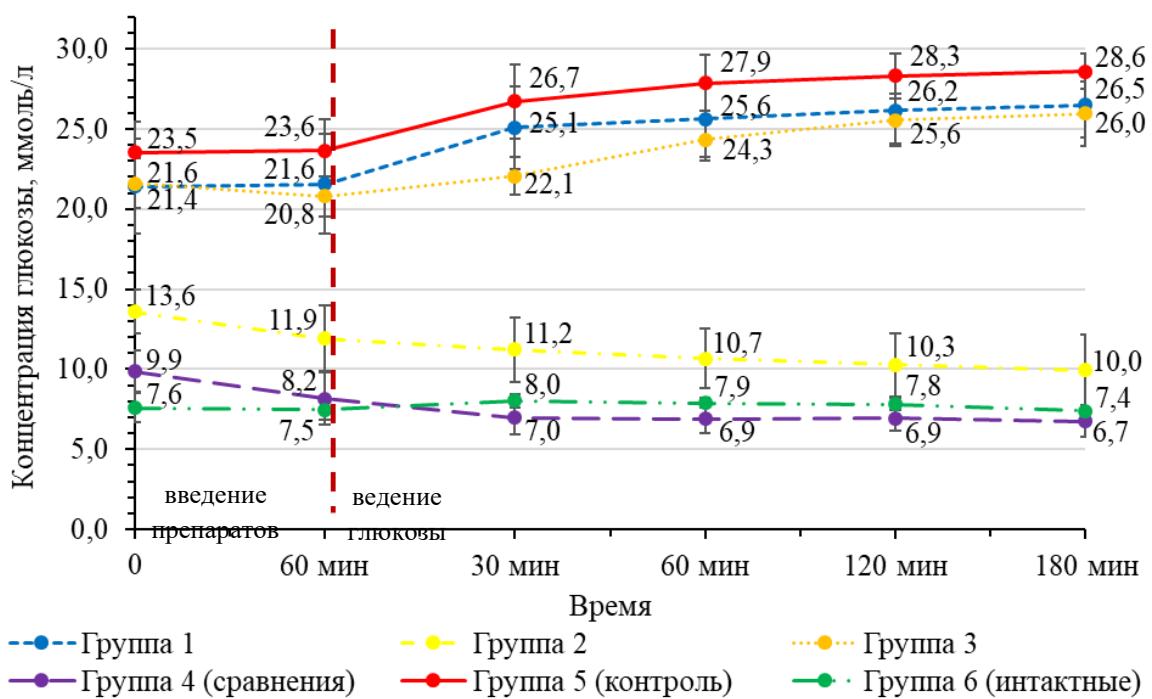


Рисунок 3.3 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных, при проведении теста на резистентность к глюкозе (7-ые сутки)

Концентрация глюкозы в крови животных на седьмые сутки составила: в группе 1 – $21,4 \pm 3,0$ ммоль/л, в группе 2 – $13,6 \pm 1,4$ ммоль/л, в группе 3 – $21,6 \pm 1,6$ ммоль/л (до введения препаратов). Концентрация глюкозы в крови животных группы 2 от первоначального уровня снизилась на 39,3% ($p < 0.05$). Через час после введения исследуемых препаратов значимое снижение уровня глюкозы наблюдалось в группе 2 и 4. При этом стоит отметить, что концентрация глюкозы в крови в группе 2 на 31% и 37% больше, чем в крови животных группы сравнения и интактных животных, но на 98,3% меньше чем в крови контрольной группы.

После перорального введения 5% раствора глюкозы в группах 1, 3 и 5 наблюдалось значимое повышение концентрации глюкозы в крови, что свидетельствует об отсутствии стабильного сахароснижающего эффекта. В группах 2 и 4 повышение уровня глюкозы в крови животных не наблюдалось.

На рисунке 3.4 представлены результаты теста на резистентность к пероральной глюкозе на введение фитосубстанции в течение четырнадцати суток.

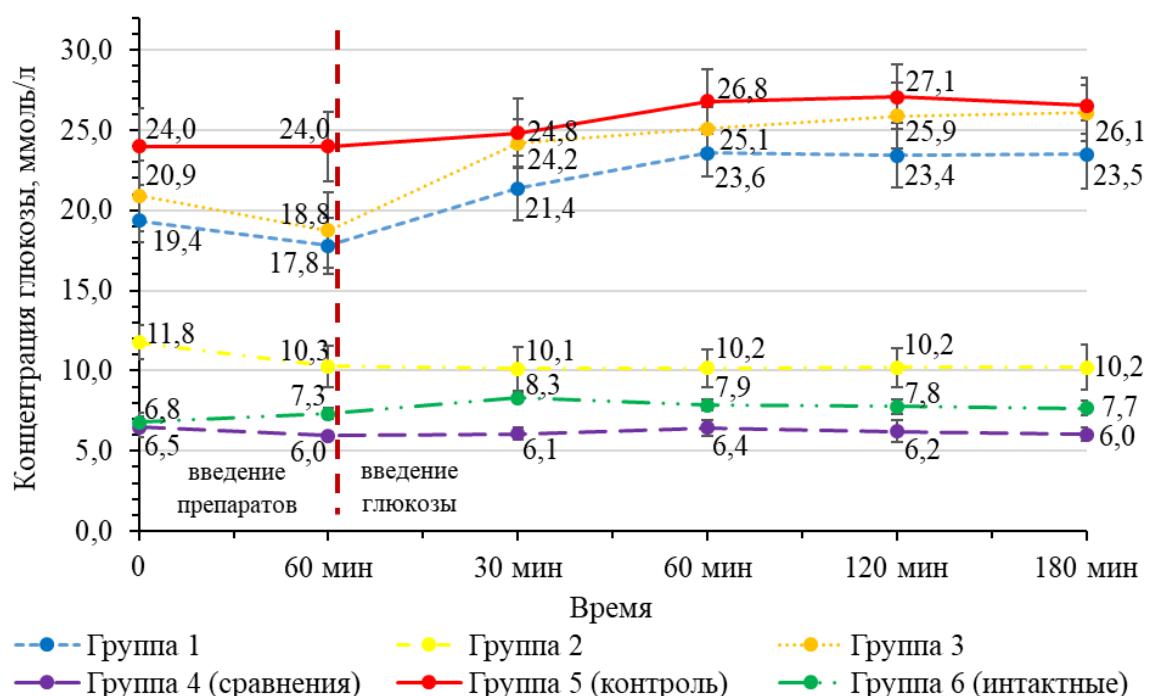


Рисунок 3.4 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных, при проведении теста на резистентность к глюкозе (14-ые сутки)

Концентрация глюкозы в крови животных на четырнадцатые сутки составила: в группе 1 – $19,4 \pm 1,4$ ммоль/л, в группе 2 – $11,8 \pm 1,1$ ммоль/л, в группе 3 – $20,9 \pm 2,2$ ммоль/л (до введения препаратов), при этом значения значимо отличаются от контрольной группы ($p < 0,05$). Через час после введения исследуемых препаратов значимое снижение уровня глюкозы наблюдалось во всех группах кроме групп 5 и 6.

После перорального введения раствора глюкозы в группах 1, 3 и 5 наблюдалось значимое повышение концентрации глюкозы в крови. В группах 2 и 4 повышение уровня глюкозы в крови животных не наблюдалось. В группе 2, после перорального введения раствора глюкозы, уровень гликемии в крови животных оставался неизмененным, так же, как и в группе сравнения.

Таким образом полученные данные свидетельствуют о наличии выраженного гипогликемического эффекта фитокомпозиции 2, состоящей из экстрактов галеги, солодки, мяты в соотношении 1:6:3. При введении состава 2 в течении четырнадцати суток концентрация глюкозы в крови животных в 2,3 раза меньше, чем в крови животных контрольной группы, в то время как уменьшение глюкозы в крови 1 и 3 групп составляет 25,8% и 21,7% соответственно.

Несмотря на более выраженный гипогликемический эффект, состав 2 не вызывал нормализации глюкозы в крови животных в течении 14 суток. Концентрация была в 1,4 раза выше физиологической нормы.

Таким образом, проведённые нами предварительные фармакологические эксперименты подтвердили наибольшую целесообразность использования в качестве базовых средств фитокомпозиции следующих моделей лекарственных растений: солодка голая, галега лекарственная и манго перечная. Этот предварительный выбор соответствует рассмотренным нами ранее литературным сведениям. Для окончательного подтверждения выбора сопутствующих гликлазиду фитокомпонентов было проведено математическое прогнозирование антидиабетической активности биологически активных веществ методом молекулярного моделирования.

3.2.2 Прогнозирование антидиабетической активности методом молекулярного моделирования

Результаты исследований активности растительных экстрактов, содержащих полифенольные соединения [118,119] свидетельствуют о сахароснижающей активности за счёт ингибирования протеин-тиrozинфосфатазы 1B (PTP1B) и мальтаза-глюкоамилазы кишечной (MGA). Протеин-тирозинфосфатаза представляет собой фермент, являющийся негативным регулятором сигнального пути инсулина, MGA представляет собой пищеварительный фермент, отвечающий за расщепление пищевых крахмалов в тонком кишечнике. Он состоит из двух субъединиц с различной субстратной специфичностью. Исследования рекомбинантных ферментов показали, что его N-концевой каталитический домен обладает наибольшей активностью в отношении мальтозы, в то время как C-концевой домен обладает более широкой субстратной специфичностью и активностью в отношении олигомеров глюкозы. Данные ферменты могут являться многообещающей потенциальной терапевтической мишенью для лечения сахарного диабета 2 типа [120-122].

Для оценки молекулярного докинга с целевым белком PTP1B и MGA выбраны галегин, L-пеганин, кемпферол, пирокатехин, пирогаллол, флороглюцин, галловая кислота, эллаговая кислота, салициловая кислота, кумаровая кислота, кофейная кислота и синтетический противодиабетический препарат гликлазид. Исследование проводили с использованием онлайн-базы данных MCULE, с помощью программного обеспечения Discovery Studio Visualizer (v.21.1.0.20298), результаты расчёта представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Значения молекулярного докинга исследуемых веществ с целевым белком PTP1B и MGA

Вещество	Значение докинга, ккал/моль	
	PTP1B	MGA
Пирокатехин	-5,0	-5,7
L-Пеганин	-5,2	-5,8

продолжение таблицы 3.2

Флороглюцин	-5,2	-5,3
Пирогаллол	-5,3	-5,8
Галегин	-6,0	-5,3
Салициловая кислота	-6,3	-6,1
Галловая кислота	-6,6	-5,9
Эллаговая кислота	-6,6	-7,1
Кумаровая кислота	-6,9	-5,8
Кофеинная кислота	-7,1	-6,7
Кемпферол	-7,2	-7,4
Гликлазид	-7,2	-7,8

Значения молекулярного докинга исследуемых веществ находится в интервале от -5,0 до -7,8 ккал/моль, что свидетельствует об их значительной активности в отношении исследуемых объектов PTP1B и MGA. При этом кемпферол и гликлазид имеют близкие значения молекулярного докинга в отношении PTP1B и MGA, схема взаимодействия представлена на рисунке 3.5.

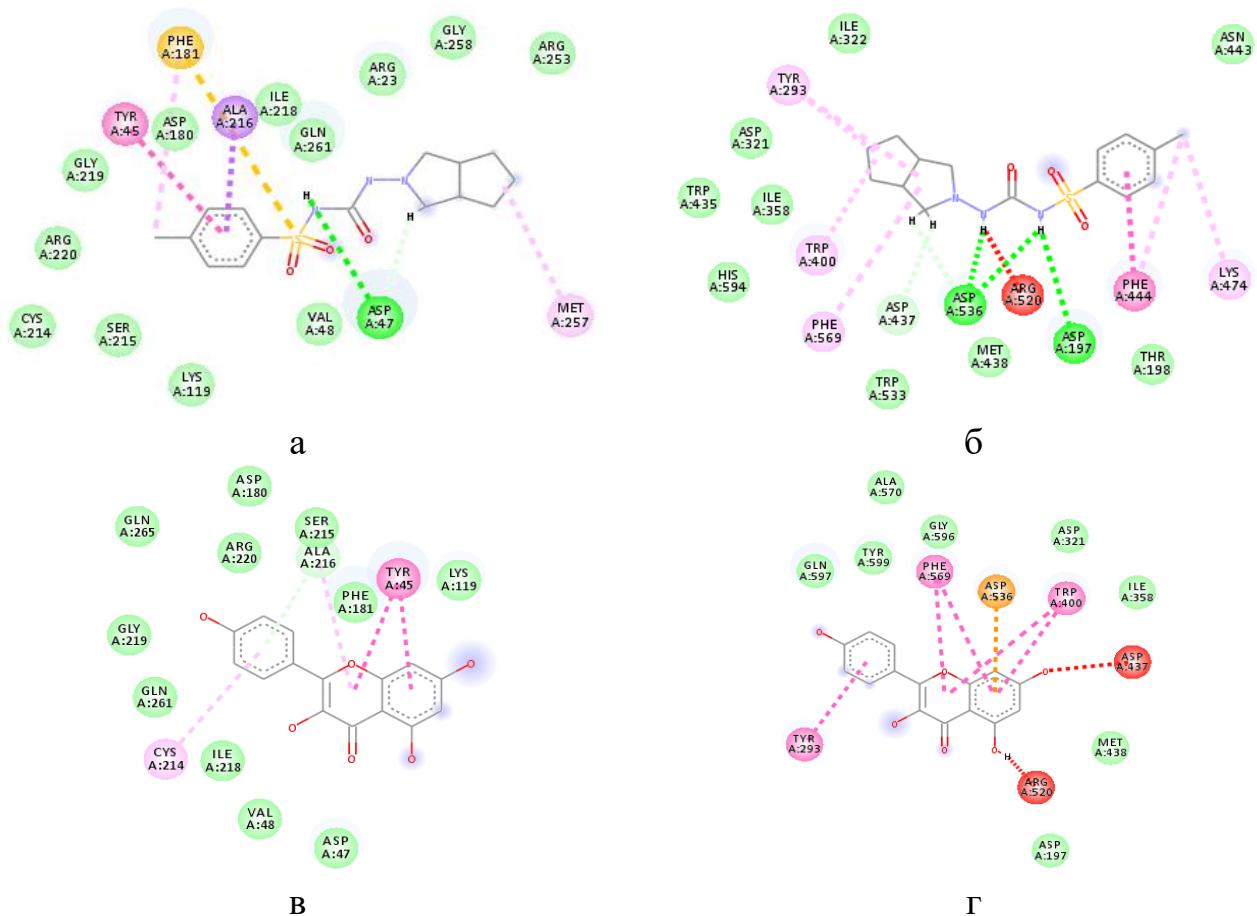


Рисунок 3.5 – Взаимодействие гликлазида с PTP1B (а) и MGA (б),
кемпферола с PTP1B (в) и MGA (г)

Далее было проведено молекулярное моделирование методами квантовой химии, преследующее своей целью полное описание тонкого геометрического и электронного строения всех рассматриваемых соединений, а также известного лиганда рецептора PTP1B, и двух молекул субстрата MGA – олигомера глюкозы, состоящего из 7 остатков глюкозы, и малтозы. Для обеспечения большей достоверности полученных результатов был проведен расчёт квантово-химическим методом PM7. Исходная геометрия генерировалась с использованием программы молекулярного моделирования «HyperChem8» (HyperCube(C), академическая лицензия №HC80SA-4-1BBF6). Результатом расчёта явилось полное описание геометрического и электронного строения исследуемых молекул в двух приближениях: с учётом гидратации (задана диэлектрическая проницаемость среды $\text{EPS}=78.4$ расчёт гидратации с использованием модели COSMO) и без учёта гидратации (в модельном «вакууме»). Результат расчёта лиганда PTP1B в 3D-формате представлен на рисунке 3.6.

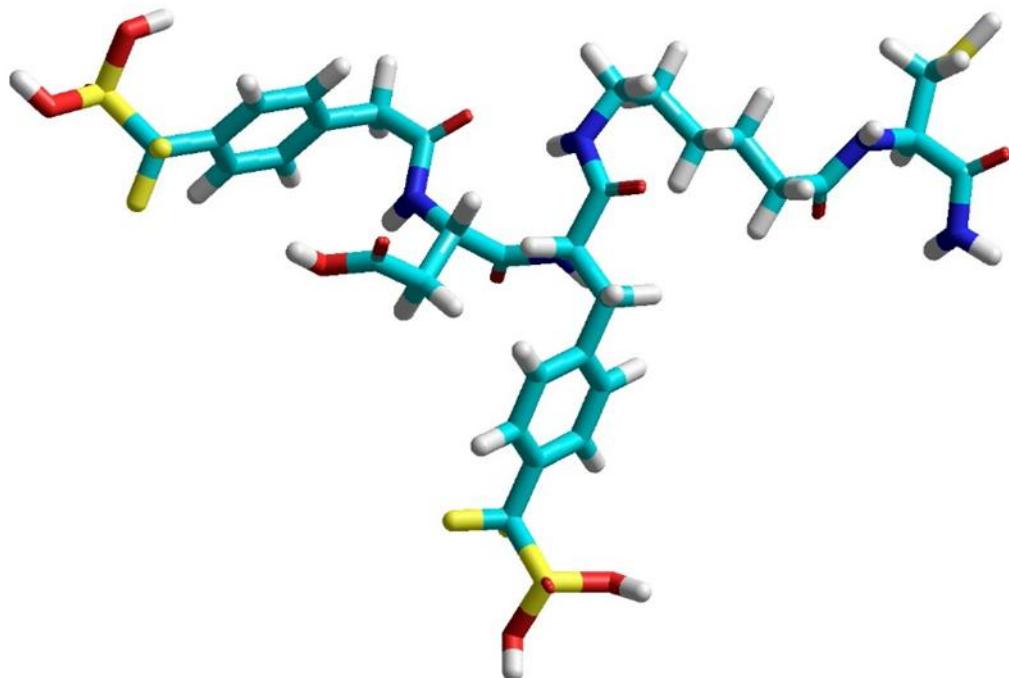


Рисунок 3.6 – Трехмерная структура лиганда PTP1B

Взаимное влияние и способность к взаимодействию оценивалась с использованием таких молекулярных дескрипторов, как: удельная теплота

гидратации ($\Delta H_{hydr}/\text{\AA}^2$), химическая устойчивость (η), химический потенциал (μ), глобальная электрофильность (ω_g). Полученные расчётные данные представлены в таблице 3.3 Приведенная (удельная) теплота гидратации $\Delta H_{hydr}/\text{\AA}^2$ хорошо описывает сродство молекул и прямо указывает на близость свойств соединений. При этом данный дескриптор позволяет оценивать сродство между молекулами любых размеров.

Таблица 3.3 – Молекулярные дескрипторы

Название	$\Delta H_{hydr}/\text{\AA}^2$, (Ккал/моль)/ \AA^2	η , эВ	μ , эВ	ω_g
Эллаговая кислота	-0.034	7.502	3.751	0.937
Салициловая к-та	-0.053	8.772	4.386	1.096
Пирокатехин	-0.057	8.952	4.476	1.119
Олигомер глюкозы	-0.061	11.198	5.599	1.399
Пеганин	-0.064	8.181	4.090	1.022
Пирогаллол	-0.066	9.049	4.524	1.131
Кумаровая кислота	-0.071	8.202	4.101	1.025
Гликлазид	-0.073	8.640	4.320	1.080
Кемпферол	-0.074	7.924	3.962	0.991
Кофейная кислота	-0.076	7.904	3.952	0.988
Лиганд PTP1B	-0.085	8.748	4.374	1.093
Галловая кислота	-0.086	8.386	4.193	1.048
Флороглюцин	-0.088	9.614	4.807	1.201
Галегин	-0.107	10.408	5.204	1.301
Мальтоза	-0.120	11.268	5.634	1.408

В процессе анализа веществ, близких по молекулярным дескрипторам к лиганду PTP1B, путём ранжирования данных по величине удельной теплоты гидратации было установлено, что наиболее высоким сродством к лиганду PTP1B обладают: гликлазид, кемпферол, кофейная кислота, галловая кислота и флороглюцин, в меньшей степени кумаровая кислота. Оценка величины химической устойчивости, химического потенциала и величины глобальной электрофильности выявил выраженное сродство гликлазида, салициловой кислоты, пирокатехина в отношении базового лиганда, и, в меньшей степени, пирогаллол.

С другой стороны, поиск веществ, близких по физико-химическим характеристикам к субстратам MGA упрощается тем, что оба субстрата (мальтоза и олигомер глюкозы) имеют сходные структуры и, соответственно, практически идентичные молекулярные дескрипторы (кроме теплоты гидратации, которая у олигомера существенно ниже). Поэтому анализ количественного сродства структур других веществ со структурой MGA может быть ограничен всего одним рядом дескрипторов.

По результатам ранжирования дескрипторов по величине удельной гидратации стоит отметить наличие сродства к естественным лигандам MGA у галегина, флороглюцина и галловой кислоты. Следует отметить, что мальтоза демонстрирует самую высокую степень удельной гидратации во всем ряду соединений. Анализ данных по величине химической устойчивости, химического потенциала показывает следующую пару соединений: галегин и, с существенным отрывом, флороглюцин, по величине глобальной электрофильности галегин, флороглюцин и пирогаллол.

Таким образом использование молекулярного моделированного основанного на определении дескрипторов показало, что проведенные нами экспериментальным путём выбор оптимальных компонентов не противоречит результатам молекулярного моделирования.

Заключение по главе 3

1. Анализ научной информации по применению растительных лекарственных средств в терапии сахарного диабета показал возможные перспективы конструирования комплексной фитосубстанции антидиабетической направленности. Обозначены основные группы биологически активных веществ, включая индивидуальные соединения, ответственные за сахароснижающую активность экстрактов солодки голой и уральской, галеги лекарственной, крапивы двудомной, липы сердцевидной, мяты перечной, разных видов шиповника. Отмечены дополнительные эффекты указанных растительных экстрактов потенциально способные облегчить течение диабета и снижать риск развития осложнений, связанных с метаболическими нарушениями при сахарном диабете.

2. Осуществлено прогнозирование антидиабетической активности методом молекулярного моделирования некоторых биологически активных соединений и гликлазида в отношении протеин-тиrozинфосфатазы 1В и малтазаглюкоамилазы кишечной. Показана теоретическая возможность ингибирования данных ферментов биологически активными веществами, содержащимися в экстрактах, а именно: кемферол, галегин, кофейная кислота, галловая кислота, флороглюцин, салициловая кислота, пирокатехин.

3. На основании результатов теоретической и математической оценки антидиабетического действия биологически активных веществ растительных экстрактов, предложены модельные композиции фитосубстанции, а именно 3 состава: состав 1 – экстракты галеги, солодки и липы в соотношении 6:3:1; состав 2 – экстракты галеги, солодки и мяты в соотношении 1:6:3; состав 3 – экстракты галеги, солодки, шиповника и крапивы в соотношении 1:1:4:4.

4. Изучена антидиабетическая активность предложенных составов фитосубстанции в сравнении с гликлазидом *in vivo*. Установлено, что состав 2 обладает более выраженным гипогликемическим эффектом, рассмотрена возможность его комбинирования с синтетическим противодиабетическим средством – гликлазидом.

ГЛАВА 4 РАЗРАБОТКА ОРИГИНАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОКАПСУЛ

Микрокапсулирование является одним из эффективных методов получения фармацевтических субстанций с заданными физико-химическими и технологическими свойствами. Кроме того, покрытие частиц оболочкой позволяет повысить стабильность лекарственных средств, изменить биофармацевтические свойства препарата, повысить профиль безопасности, снизить выраженность побочных реакций.

Сухие экстракты отличаются высокой гигроскопичностью, неоднородностью фракционного состава частиц, что сказывается на сыпучести, однородности дозирования массы и, как следствие, существенно усложняет технологический процесс производства лекарственных препаратов, их стандартизацию. Микрокапсулирование экстрактов позволяет оптимизировать технологические параметры субстанции, такие как размер и форма частиц, влажность, однородность фракционного состава, что в свою очередь улучшает сыпучесть массы и повышает точность дозирования. Инкапсуляция сухих экстрактов также способствует повышению стабильности биологически активных веществ вследствие снижения действия влаги, кислорода и излучения.

Учитывая разнообразие качественного состава биологически активных веществ лекарственных растений, их физико-химические свойства, реакционную способность, микрокапсулирование субстанций растительного происхождения позволяет осуществлять безопасное комбинирование с синтетическими лекарственными средствами и производство стабильных лекарственных препаратов сложного состава. Кроме того, микрокапсулирование позволяет обеспечить пролонгированность лекарственной формы вследствие более длительного действия лекарственного средства с одновременным снижением его суточной дозы, обеспечивая поддержание в крови постоянной концентрации действующего вещества без пиковых колебаний.

На сегодняшний день имеется большой опыт разработки микрокапсул растительных экстрактов. Так, запатентованы: технология получения желатиновых микрокапсул экстрактов травы зюзника европейского и сухого экстракта корневищ и корней лапчатки белой [123], способ получения альгинат-хитозановых микрокапсул с винпоцетином [124], способ получения микрокапсул седативных средств (экстракт валерианы, экстракт пустырника) в желатине [125], способ получения микрокапсул жирорастворимых витаминов в желатине [126].

4.1 Разработка оптимальной технологии получения микрокапсул

4.1.1 Разработка состава и оптимальной технологии получения микрокапсулированных форм фитосубстанции и гликлазида с оболочкой из желатина

Для разработки оптимальной технологии получения микрокапсул комбинированной фитосубстанции, покрытых оболочкой из желатина, были разработаны модельные составы микрокапсул. Основываясь на результатах исследований растительных экстрактов, представленных в главе 3, также были предложены комбинированные составы синтетического гипогликемического средства – гликлазида с фитокомплексом растительных экстрактов. При этом были рассмотрены различные соотношения «ЛВ: П».

Процесс получения микрокапсул заключался в приготовлении на первом этапе водного раствора плёнкообразователя, для чего необходимую массу желатина заливали водой очищенной, добавляли глицерин и оставляли для набухания при комнатной температуре в течение 1 часа. После полной гидратации желатина массу нагревали на водяной бане при температуре 50 °С и выдерживали при данной температуре в течение 10-20 минут. Затем к полученной массе плёнкообразователя при перемешивании добавляли смесь сухих экстрактов солодки, галеги, мяты и гликлазида согласно таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Состав опытных серий микрокапсул с оболочкой из желатина

Компоненты*	Состав					
	1	2	3	4	5	6
Гликлазид	-	3,0	-	3,0	-	3,0
Экстракт галеги	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Экстракт солодки	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Экстракт мяты	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Желатин	5,0	6,5	10,0	13,0	20,0	26,0
Глицерин	0,5	0,65	1,0	1,3	2,0	2,6
Вода очищенная	11,5	15,0	23,0	29,9	46,0	59,8

* – количества компонентов указаны в граммах

Процесс формирования микрокапсул методом диспергирования в системе жидкость-жидкость осуществляли в реакторе с рубашкой. В котел помещали 500 мл вазелинового масла и нагревали до 50 °C, включали мешалку с 4-хлопастной насадкой и добавляли суспензию лекарственных средств в растворе полимера. Диспергирование осуществляли в течение 30-60 минут, скорость вращения мешалки 300 об/мин, по истечении времени охлаждали систему до 15 °C и продолжали перемешивание в течение 60 минут для стабилизации оболочек микрокапсул. Готовые микрокапсулы отделяли от вазелинового масла фильтрованием с последующим промыванием изопропиловым спиртом. Полученные микрокапсулы сушили в сушильном шкафу до исчезновения запаха изопропилового спирта.

В таблице 4.2 представлены результаты оценки эффективности процесса микрокапсулирования на основании количественного выхода микрокапсул и эффективности процесса инкапсулирования лекарственных веществ.

Таблица 4.2 – Характеристика процесса микрокапсулирования

Состав	Соотношение «ЛВ: П»	Выход, % масс	Эффективность инкапсулирования, %
1	2:1	$66,7 \pm 3,5$	$47,4 \pm 4,9$
2	2:1	$56,1 \pm 3,1$	$55,3 \pm 6,8$
3	1:1	$83,6 \pm 0,9$	$90,5 \pm 2,0$
4	1:1	$82,4 \pm 1,9$	$92,1 \pm 3,5$
5	1:2	$66,1 \pm 3,7$	$69,1 \pm 3,8$
6	1:2	$68,6 \pm 1,3$	$62,1 \pm 2,8$

По данным, представленным в таблице 4.2, следует отметить, что проведение процесса микрокапсулирования при соотношении компонентов «ЛВ: П» – 1:1 (составы 3 и 4) определяет наибольший выход продукта.

Кроме того, согласно литературным данным [127-132] на количественный выход, размер и фракционный состав микрокапсул, полученных методом диспергирования в системе жидкость-жидкость, оказывает влияние соотношение фаз, скорость перемешивания. Дальнейшие исследования были посвящены изучению влияния скорости диспергирования на размер микрокапсул для определения оптимальных технологических параметров. С этой целью были наработаны опытные образцы микрокапсул составов 3 и 4 при различных скоростях перемешивания: 300, 450 и 600 об/мин. При этом анализ литературных данных показал, что оптимальное соотношение фаз составляет 1:5.

Анализ фракционного состава микрокапсул, полученных при различных параметрах перемешивания, проводили согласно ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ» ГФ XIV издания (методика аналогична ГФ XV издания). Результаты анализа микрокапсул состава 3 (без добавления гликлазида) представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Анализ фракционного состава желатиновых микрокапсул (состав 3), полученных при различных скоростях перемешивания

Скорость работы мешалки, об/мин	Фракционный состав, %						
	< 0,1 мм	0,1-0,2 мм	0,2-0,4 мм	0,4-0,5 мм	0,5-0,8 мм	0,8-1,0 мм	1,0-2,0 мм
300	1,11	15,71	13,45	23,96	17,54	16,09	12,14
450	2,90	9,86	63,30	16,67	3,19	2,70	1,40
600	13,38	33,48	24,97	18,21	8,13	1,00	0,82

Результаты анализа микрокапсул состава 4 (с добавлением гликлазида) представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Анализ фракционного состава желатиновых микрокапсул (состав 4), полученных при различных скоростях перемешивания

Скорость работы мешалки, об/мин	Фракционный состав, %						
	< 0,1 мм	0,1-0,2 мм	0,2-0,4 мм	0,4-0,5 мм	0,5-0,8 мм	0,8-1,0 мм	1,0-2,0 мм
300	1,97	5,28	10,59	28,23	20,84	13,74	19,35
450	3,37	8,99	52,97	28,50	2,53	1,91	1,72
600	25,17	38,04	23,09	4,93	4,30	3,84	0,63

Стоит отметить, что при проведении процесса микрокапсулирования при скорости диспергирования 300 об/мин, полученные микрокапсулы представляют собой полидисперсную смесь. При увеличении скорости перемешивания до 450 об/мин наблюдается уменьшение размера микрокапсул, при этом порядка 90% частиц находятся в диапазоне от 100 до 500 мкм. Увеличение скорости до 600 об/мин приводит к сдвигу фракционного состава и увеличению доли микрокапсул размером до 100 мкм. Учитывая, что размер микрокапсул, применяемых в медицине, варьируется в диапазоне 100 – 500 мкм, оптимальным является проведение процесса получения микрокапсул при скорости диспергирования 450 об/мин.

Также дополнительно методом оптической микроскопии была проведена характеристика формы и размера микрокапсул, полученных при оптимальных технологических условиях. Исследование проводили согласно ОФС.1.1.0009.15 «Оптическая микроскопия» ГФ XIV издания (методика аналогична ГФ XV издания).

Результаты микроскопического анализа микрокапсул с фитокомпозицией экстрактов (состав 3) представлены на рисунке 4.1: а-в – скорость диспергирования микрокапсул 300 об/мин; г-е – скорость диспергирования 450 об/мин; ж-и – скорость диспергирования 600 об/мин.

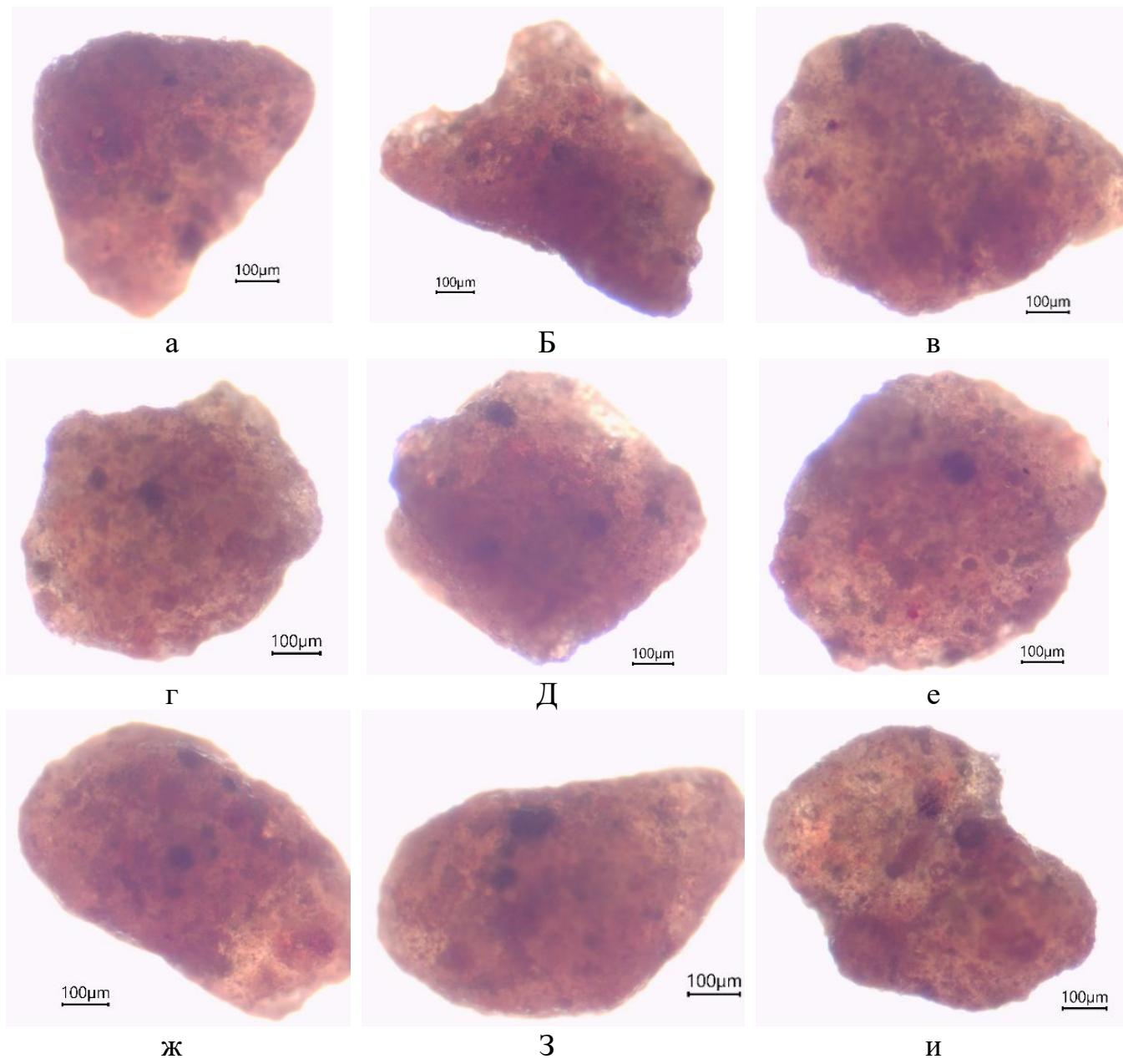


Рисунок 4.1 – Характеристика желатиновых микрокапсул с фитокомпозицией – состав 3 (увеличение $\times 40$)

Микрокапсулы имеют шероховатую поверхность. При этом наиболее сферическая форма микрокапсул отмечена при диспергировании при 450 об/мин, при увеличении скорости микрокапсулы приобретают эллиптическую форму, при скорости вращения мешалки 300 об/мин микрокапсулы имеют неправильную геометрическую форму.

Результаты микроскопического анализа микрокапсул, содержащих комбинацию фитоэкстрактов и гликлазида (состав 4) представлены на рисунке

4.2: а-в – скорость диспергирования микрокапсул 300 об/мин; г-е – скорость диспергирования 450 об/мин; ж-и – скорость диспергирования 600 об/мин.

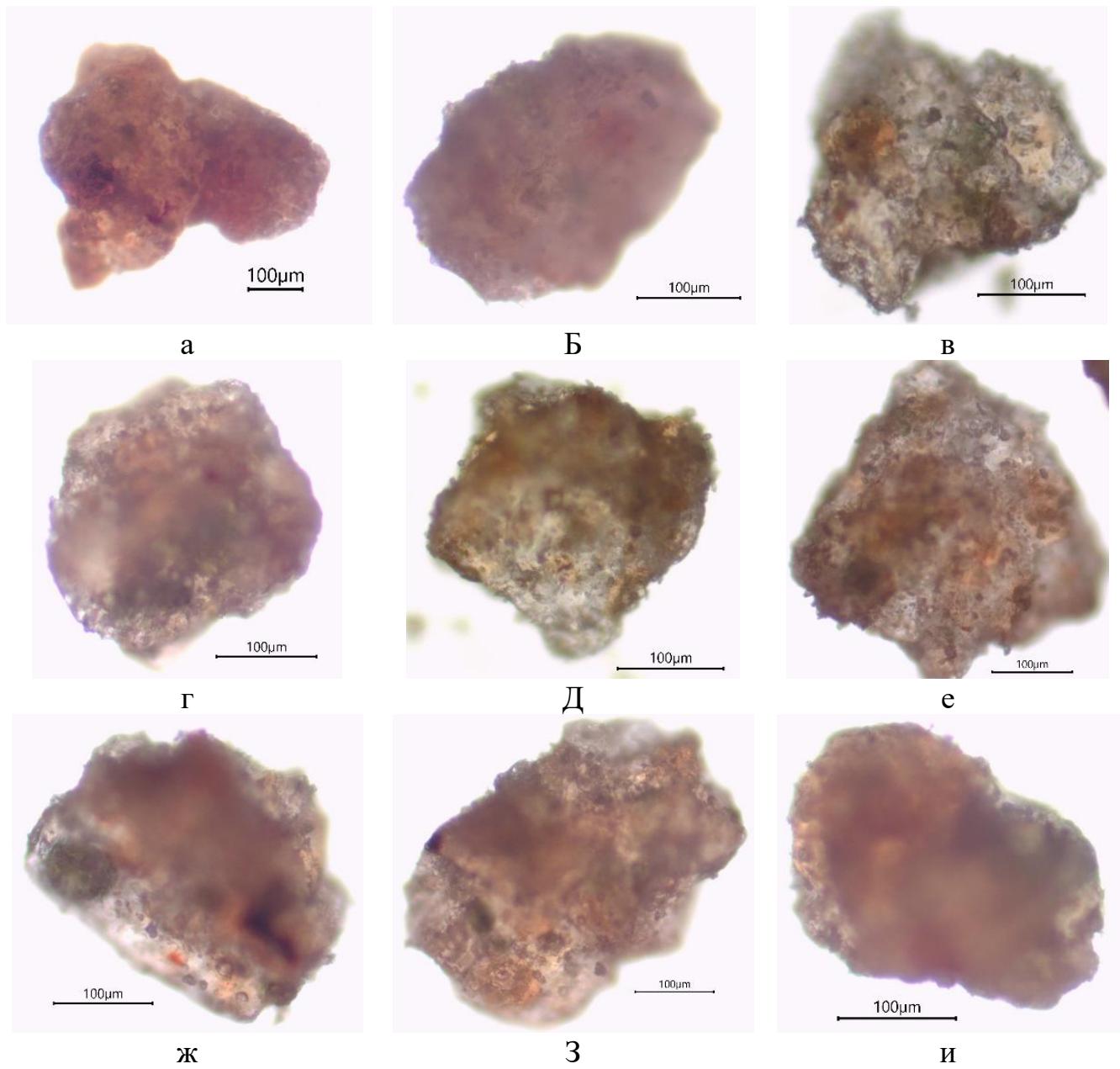


Рисунок 4.2 – Характеристика комбинированных желатиновых микрокапсул фитоэкстрактов с гликлазидом – состав 4 (увеличение×100)

Микрокапсулы, содержащие комбинацию фитоэкстрактов и гликлазида (состав 4), имеют шероховатую поверхность. При этом более сферические микрокапсулы образуются при скорости диспергирования 450 об/мин, при увеличении скорости до 600 об/мин микрокапсулы приобретают эллиптическую

форму, при скорости вращения мешалки 300 об/мин микрокапсулы имеют неправильную геометрическую форму.

Анализ размера микрокапсул фракции 0,2-0,4 мм показал преобладание частиц со средним значением эквивалентного диаметра $258,19 \pm 19,05$ мкм, при этом средняя длина микрокапсул составляет $291,63 \pm 54,42$ мкм, ширина $245,39 \pm 25,14$ мкм. Также определено среднее значение площади окружности микрокапсул с учётом эквивалентного диаметра окружности – $52592,84 \pm 7783,47$ мкм².

На основании проведенных исследований предложены оптимальные составы желатиновых микрокапсул, содержащие в качестве инкапсулируемой субстанции смесь растительных экстрактов галеги солодки и мяты, так и комбинацию фитоэкстрактов с гликлазидом.

Соотношение компонентов (г) желатиновых микрокапсул с растительными экстрактами:

Экстракт галеги	10,0
Экстракт солодки	60,0
Экстракт мяты	30,0
Желатин	100,0
Глицерин	10,0
Вода очищенная	230,0

Соотношение компонентов (г) желатиновых микрокапсул, содержащих комбинацию растительных экстрактов и гликлазида:

Гликлазид	30,0
Экстракт галеги	10,0
Экстракт солодки	60,0
Экстракт мяты	30,0
Желатин	130,0
Глицерин	13,0
Вода очищенная	299,0

Проведенные исследования позволяют обосновать оптимальные технологические условия получения желатиновых микрокапсул предложенных составов. Учитывая возможность использования микрокапсул в качестве промежуточного продукта для получения лекарственных препаратов с модифицированным высвобождением, на рисунке 4.3 представлен фрагмент интегрированной технологической схемы получения микрокапсул.

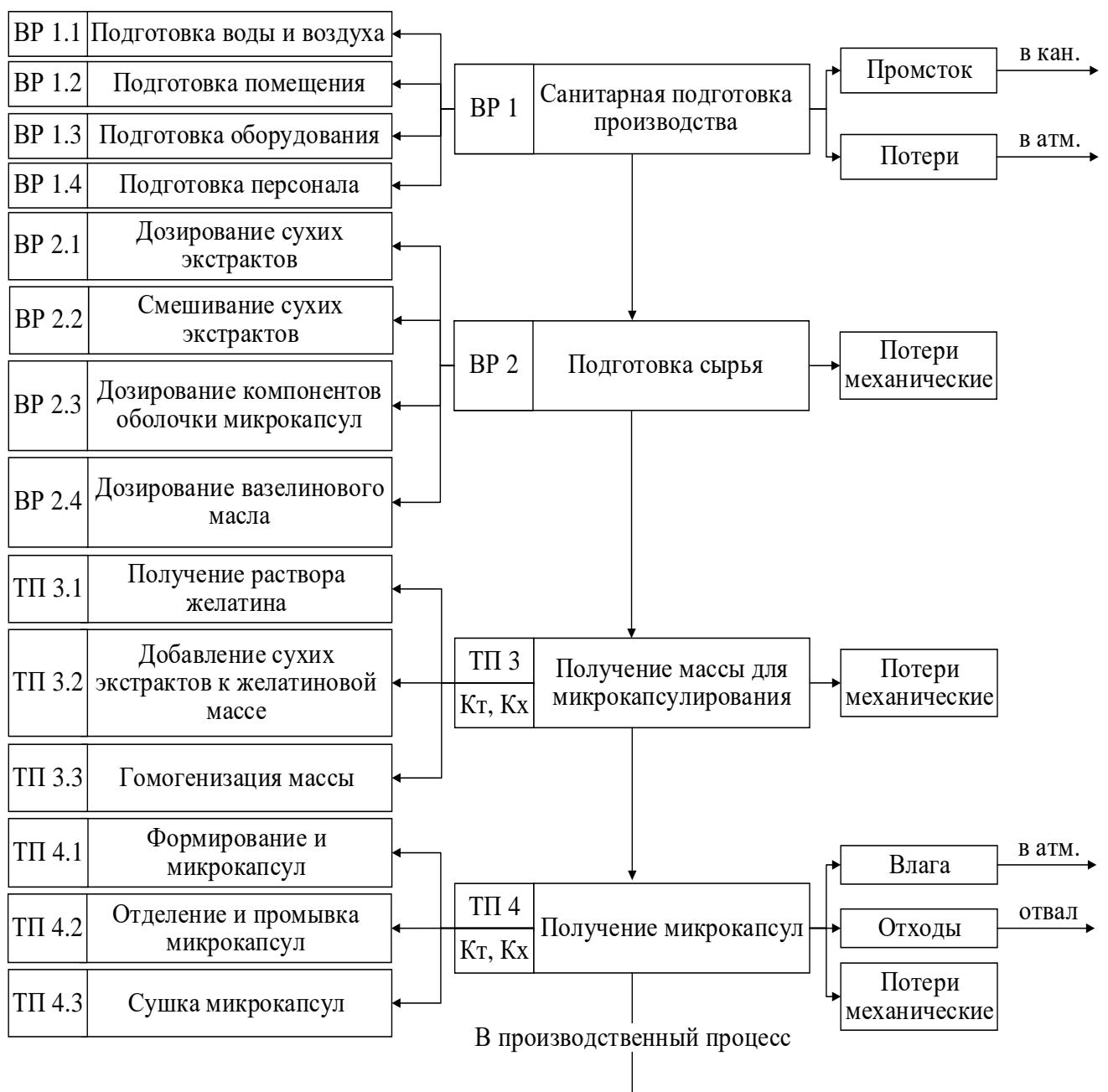


Рисунок 4.3 – Технологическая схема производства микрокапсул растительных экстрактов с оболочкой из желатина

Технология получения микрокапсул начинается с подготовки производства, включающей в себя операции связанные с:

- получением воды очищенной;
- подготовкой воздуха, подаваемого в производственные помещения;
- подготовкой производственных помещений и персонала;
- подготовкой оборудования.

На данной стадии также производится санитарная подготовка производства. Все процедуры проводятся в соответствии с требованиями действующей нормативной документации и внутренними документами предприятия, регламентирующими данные операции.

Следующей ключевой стадией производственного процесса является подготовка сырья, включающая дозирование по массе сухих экстрактов галеги, солодки и мяты, с последующим их смешиванием до однородной массы. В качестве оборудования для смешивания компонентов фитосубстанции предполагается использование бинового смесителя V-образной формы. Учитывая плохую сыпучесть растительных экстрактов, а также склонность к образованию комков и налипанию на стенки аппаратов, данный вид смесителя является наиболее технологически приемлемым.

Дозирование всех компонентов для получения оболочек микрокапсул (желатин, глицерин, вода очищенная) и вазелинового масла осуществляют по массе с учётом свойств компонентов и передают на дальнейшие стадии производственного процесса в соответствии с их назначением. Все исходные компоненты должны соответствовать требованиям нормативной документации и проходить предварительный контроль на соответствие стандартам качества.

Следующим этапом производственного процесса является стадия получения раствора плёнкообразователя. Получение раствора желатина, осуществляется в реакторе-смесителе, снабженном рубашкой и мешалкой. В первую очередь в ёмкость реактора добавляют воду очищенную, затем засыпают желатин и оставляют для набухания (продолжительность этапа набухания зависит от массы

загрузки сырья, в среднем составляет 60 минут). После полной гидратации желатина, полученную массу нагревают до 50 °C при постоянном перемешивании. Далее к желатиновой массе добавляют пластификатор – глицерин и продолжают перемешивание до получения однородной массы в течение 20-30 минут. Полученную смесь растительных экстрактов добавляют в реактор-смеситель к раствору желатина.

Смесь раствора плёнкообразователя с растительными экстрактами гомогенизируют до однородной массы. Учитывая высокую вязкость массы, для гомогенизации рационально использовать погружную мешалку рамного типа, снабженную дополнительными скребками для снятия массы со стенок реактора. При этом следует отметить, что скорость перемешивания должна обеспечивать однородность распределения компонентов и минимизировать образование пузырьков воздуха в массе. Полученную массу вакуумируют и с помощью насоса перекачивают во второй реактор-смеситель, снабженный турбинной мешалкой, и распыляют через систему форсунок. Предварительно во второй реактор загружают вазелиновое масло и нагревают до 50 °C.

Распыление осуществляют при работе турбинной мешалки со скоростью 450 об/мин. По окончанию распыления содержимое реактора охлаждают до 15 °C. Для предотвращения оседания и слияния сформированных микрокапсул необходимо дополнительно оснастить реактор донной мешалкой.

Содержимое второго реактора фильтруют с целью отделения микрокапсул. Фильтрат в виде использованного вазелинового масла отправляют на дополнительную очистку, восстановленное вазелиновое масло может повторно использоваться в технологическом процессе.

Полученные микрокапсулы обрабатывают изопропиловым спиртом для удаления остатков вазелинового масла, готовые микрокапсулы отделяют путём фильтрования. Отработанный изопропиловый спирт передают на очистку, восстановленный спирт может повторно использоваться в технологическом процессе.

Полученные микрокапсулы сушат в сушильном шкафу в течение 10-12 часов до полного удаления изопропилового спирта. Готовый продукт собирают в технические емкости, обеспечивающие надлежащее хранение, и передают на дальнейшие стадии технологического процесса.

Технологический процесс микрокапсулирования комбинации субстанции фитоэкстрактов и гликлазида будет проводится аналогично описанному выше с внесением корректировок на стадии подготовки сырья.

На основании результатов проведенных исследований и разработанной технологической схемы можно определить ключевые стадии и критические параметры технологического процесса – таблица 4.5.

Таблица 4.5 – Критические стадии технологического процесса получения микрокапсул

Наименование критической стадии	Контролируемый параметр	Обоснование
ВР 2.1 Смешивание растительных экстрактов	Скорость вращения барабана смесителя, время перемешивания	Нарушение условий смешивания приведет к потере однородности массы и дозирования
ТП 3.2 Гомогенизация массы	Время и скорость перемешивания	Нарушение условий приведет к потере однородности массы
ТП 4.1 Формирование микрокапсул	Скорость распыления, скорость диспергирования и перемешивания, градиент температуры	Нарушение условий приведет к изменению размера и фракционного состава микрокапсул
ТП 4.3 Сушка микрокапсул	Температура, время сушки	Нарушение условий приведет к повышенной гигроскопичности микрокапсул

4.1.2 Разработка оптимальной технологии получения микрокапсулированной формы фитосубстанции с оболочкой из полиэтиленгликоля

При разработке оптимальной технологии получения микрокапсул комбинированной фитосубстанции, покрытых оболочкой из полиэтиленгликоля,

руководствовались принципами и этапами, представленными в разделе 4.1.1. В качестве оболочки микрокапсул был выбран ПЭГ-6000. При этом для оптимизации гипогликемического эффекта предложены составы с увеличенным содержанием растительных компонентов, а именно экстракта галеги и экстракта солодки. Данные экстракты, согласно данным литературы, являются наиболее перспективными растительными сахароснижающим компонентами.

Модельные составы микрокапсул представлены в таблице 4.6, соотношение «ЛВ:П» составляло: 2:1 – состав 7 и 8, 1:1 – состав 9 и 10, 1:2 – состав 11 и 12.

Таблица 4.6 – Состав опытных серий микрокапсул с оболочкой из ПЭГ

Компоненты*	Состав					
	7	8	9	10	11	12
Экстракт галеги	1,0	5,0	1,0	5,0	1,0	5,0
Экстракт солодки	6,0	7,0	6,0	7,0	6,0	7,0
Экстракт мяты	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
ПЭГ-6000	5,0	7,5	10,0	15,0	20,0	30,0

* – количества компонентов указаны в граммах

В котел помещали 500 мл метилмиристата и нагревали до 60 °C, включали мешалку с 4-хлопастной насадкой и добавляли суспензию лекарственных средств в расплаве полимера в соотношениях, представленных в таблице 4.6. Диспергирование осуществляли в течение 30-60 минут, скорость вращения мешалки 300 об/мин, по истечении времени охлаждали систему до 15 °C и продолжали перемешивание в течение 60 минут для стабилизации оболочек микрокапсул. Готовые микрокапсулы отделяли от метилмиристата фильтрованием с последующим промыванием 90% этиловым спиртом, следя при этом, чтобы не произошло растворения оболочки. Полученные микрокапсулы сушили в сушильном шкафу до исчезновения запаха этанола.

В таблице 4.7 представлены результаты оценки эффективности процесса микрокапсулирования.

Таблица 4.7 – Характеристика процесса микрокапсулирования

Состав	Соотношение «ЛВ:П»	Выход, % масс	Эффективность инкапсулирования, %
7	2:1	$53,7 \pm 2,5$	$42,4 \pm 2,9$
8	2:1	$52,3 \pm 2,3$	$52,0 \pm 4,9$
9	1:1	$87,9 \pm 1,6$	$92,5 \pm 3,5$
10	1:1	$90,4 \pm 2,2$	$91,1 \pm 1,8$
11	1:2	$65,2 \pm 2,2$	$69,2 \pm 6,1$
12	1:2	$76,7 \pm 1,2$	$77,3 \pm 3,0$

По данным, представленным в таблице 4.7, можно отметить, что проведение процесса микрокапсулирования при соотношении компонентов «ЛВ: П» – 1:1 (составы 9 и 10) определяет наибольший выход продукта.

Как отмечалось в разделе 4.1.1, одним из ключевых факторов, влияющих на процесс микрокапсулирования, является скорость диспергирования. Для определения оптимальной скорости диспергирования были наработаны опытные образцы микрокапсул составов 9 и 10 при 300, 450 и 600 об/мин. Полученные образцы были охарактеризованы по размеру микрокапсул.

Анализ фракционного состава микрокапсул, полученных при различных параметрах перемешивания, проводили согласно ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ» ГФ XIV издания (методика аналогична ГФ XV издания). Результаты представлены в таблицах 4.8 и 4.9.

Таблица 4.8 – Анализ фракционного состава микрокапсул с оболочкой из ПЭГ-6000 (состав 9), полученных при различных скоростях перемешивания

Скорость работы мешалки, об/мин	Фракционный состав, %						
	< 0,1 мм	0,1-0,2 мм	0,2-0,4 мм	0,4-0,5 мм	0,5-0,8 мм	0,8-1,0 мм	1,0-2,0 мм
300	0,11	6,63	9,35	16,16	20,52	22,72	24,51
450	4,09	30,99	34,95	24,73	2,54	0,74	1,96
600	14,76	20,18	17,19	24,74	17,43	3,05	2,65

Таблица 4.9 – Анализ фракционного состава микрокапсул с оболочкой из ПЭГ-6000 (состав 10), полученных при различных скоростях перемешивания

Скорость работы мешалки, об/мин	Фракционный состав, %						
	< 0,1 мм	0,1-0,2 мм	0,2-0,4 мм	0,4-0,5 мм	0,5-0,8 мм	0,8-1,0 мм	1,0-2,0 мм
300	3,28	3,45	6,43	32,58	26,72	17,14	10,40
450	4,81	20,71	37,40	30,75	1,69	2,58	2,06
600	22,78	14,30	17,36	14,18	14,64	11,39	5,35

Анализ фракционного состава, представленный в таблицах 4.8 и 4.9, также свидетельствуют об уменьшении размера микрокапсул при возрастании скорости диспергирования, что также соответствует теоретическим основам процесса микрокапсулирования. Оптимальная скорость диспергирования микрокапсул составляет 450 об/мин, при этом суммарная доля целевых фракций микрокапсул (100-500 мкм) составляет: состав 9 – 90,67%, и состав 10 – 88,86%, при этом следует отметить, что доля фракции менее 100 мкм составляет менее 5%. Увеличение скорости диспергирования до 600 об/мин приводит к увеличению доли микрокапсул фракции менее 100 мкм.

Также дополнительно методом оптической микроскопии была проведена характеристика формы и размера микрокапсул, полученных при оптимальных технологических условиях. Исследование проводили согласно ОФС.1.1.0009.15 «Оптическая микроскопия» ГФ XIV издания (методика аналогична ГФ XV издания). Результаты микроскопического анализа представлены на рисунках 11 и 12. а-б – скорость диспергирования микрокапсул 300 об/мин; в-г – скорость диспергирования 450 об/мин; д-е – скорость диспергирования 600 об/мин.

Форма микрокапсул зависит от скорости диспергирования, частицы, имеющие максимально приближенную к сферической форму, образуются при скорости диспергирования 450 об/мин, микрокапсулы имеют гладкую, рельефную поверхность.

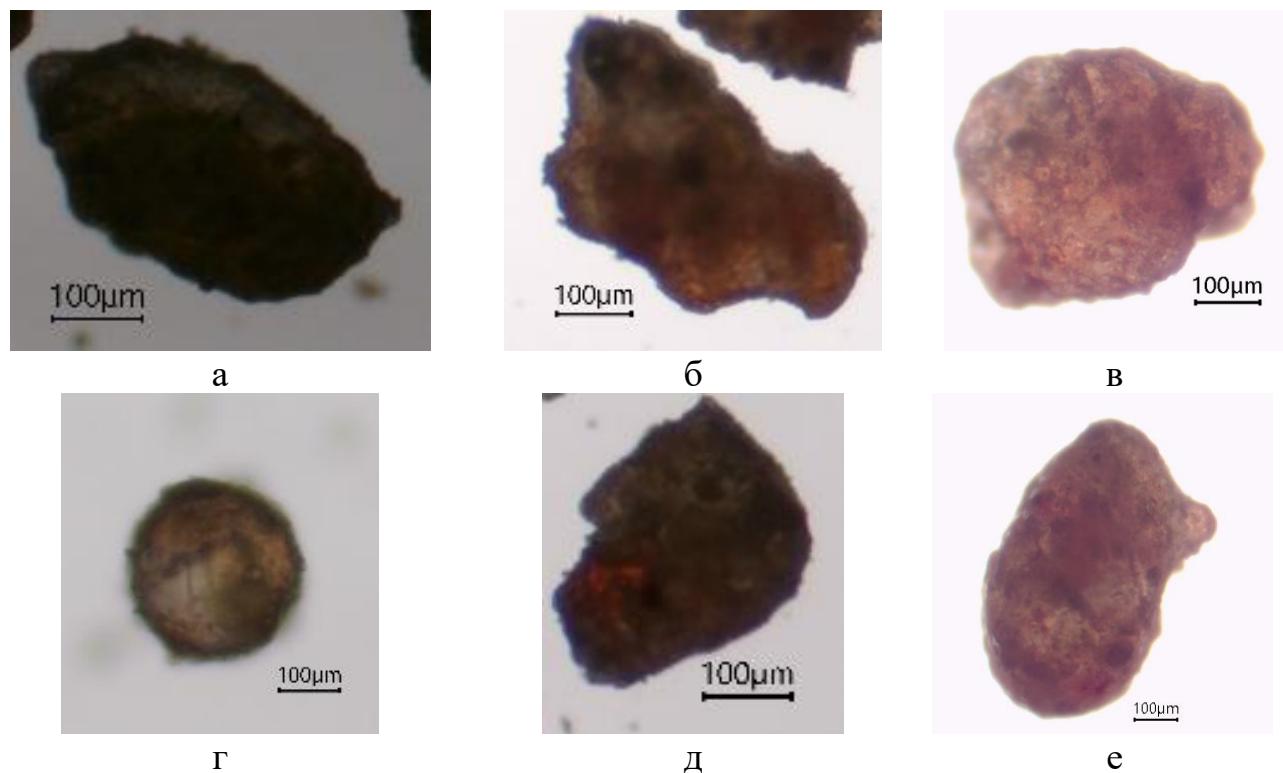


Рисунок 4.4 – Характеристика микрокапсул фитосубстанции – состав 9
(увеличение $\times 40$)

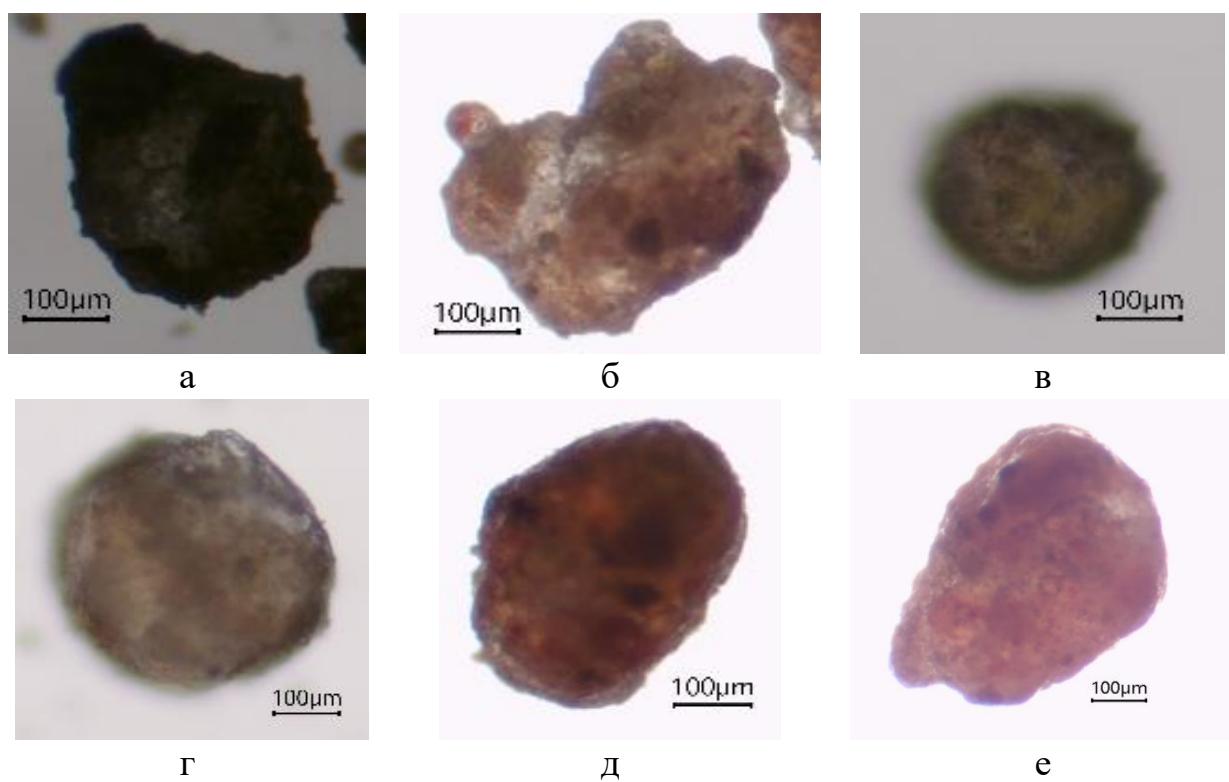


Рисунок 4.5 – Характеристика микрокапсул фитосубстанции – состав 10
(увеличение $\times 40$)

При скорости диспергирования 300 об/мин образуются микрокапсулы неправильной, вытянутой формы, частицы имеют выраженную угловатость, поверхность преимущественно рельефная, наблюдается образование наплывов массы. Микрокапсулы, образующиеся при скорости диспергирования 600 об/мин, также имеют гладкую, рельефную поверхность, форма частиц неправильная, близкая к овальной.

Анализ размера микрокапсул фракции 0,2-0,4 мм показал преобладание частиц со средним значением эквивалентного диаметра $259,55 \pm 26,45$ мкм, при этом средняя длина составляет $301,31 \pm 31,81$ мкм, ширина $248,56 \pm 35,16$ мкм. Также определено среднее значение площади окружности микрокапсул с учётом эквивалентного диаметра окружности – $53386,51 \pm 11891,40$ мкм².

На основании проведённых исследований установлены оптимальные составы микрокапсул с оболочкой из ПЭГ-6000, содержащих в качестве инкапсулируемой субстанции смесь растительных экстрактов галеги солодки и мяты (состав 9 и 10).

Соотношение компонентов (г) микрокапсул фитосубстанции с оболочкой из полиэтиленгликоля 6000:

Экстракт галеги	10,0 / 50,0
Экстракт солодки	60,0 / 70,0
Экстракт мяты	30,0 / 30,0
Полиэтиленгликоль 6000	100 / 150,0

Проведённые исследования позволяют обосновать оптимальные технологические условия получения микрокапсул предложенных составов. На рисунке 4.6 представлен фрагмент интегрированной технологической схемы получения микрокапсул.

Производственный процесс классически начинается со стадия подготовки производства и включает в себя операции связанные с:

- получением воды очищенной;
- подготовкой воздуха, подаваемого в производственные помещения;

- подготовкой производственных помещений и персонала;
- подготовкой оборудования.

На данной стадии также производится санитарная подготовка производства. Все процедуры проводятся в соответствии с требованиями действующей нормативной документации и внутренними документами предприятия, регламентирующими данные операции.



Рисунок 4.6 – Технологическая схема производства микрокапсул растительных экстрактов с оболочкой из ПЭГ-6000

Дальнейшим этапом является подготовка сырья, включающая в себя дозирование по массе сухих экстрактов галеги, солодки и мяты, с последующим

их смещиванием до однородной массы. В качестве оборудования для смещивания компонентов фитосубстанции также предполагается использование бинового смесителя V-образной формы.

Дозирование ПЭГ-6000 и метилмиристата осуществляют по массе с учётом физико-химических свойств компонентов и передают на соответствующие стадии технологического процесса. Все исходные компоненты должны соответствовать требованиям нормативной документации и проходить предварительный контроль на соответствие стандартам качества.

Дальнейшие стадии производственного процесса направлены на получение массы для микрокапсулирования. С этой целью в реактор-смеситель, снабжённый рубашкой и мешалкой, добавляют ПЭГ-6000 и расплавляют при 60 °С. Далее подготовленную смесь растительных экстрактов добавляют в реактор-смеситель к расплаву ПЭГа. Полученную массу гомогенизируют до однородного состояния. Учитывая вязкость массы для гомогенизации рационально использовать погружную мешалку рамного типа, снабженную дополнительными скребками для снятия массы со стенок реактора. При этом следует отметить, что скорость перемешивания должна обеспечивать однородность распределения компонентов и минимизировать образование пузырьков воздуха в массе. Далее полученную массу вакуумируют.

Во второй реактор-смеситель, снабжённый турбинной мешалкой, загружают метилмиристат и нагревают до 50 °С. Массу из первого реактора перекачивают с помощью насоса по трубопроводу и распыляют через систему форсунок. Распыление осуществляют при работе турбинной мешалки со скоростью 450 об/мин. По окончании распыления содержимое реактора охлаждают до 15 °С. Для предотвращения оседания и слияния сформированных микрокапсул необходимо дополнительно оснастить реактор донной мешалкой. Содержимое второго реактора фильтруют с целью отделения микрокапсул. Фильтрат в виде отработанного метилмиристата отправляют на дополнительную очистку с целью последующего повторного использования в технологическом процессе.

Полученные микрокапсулы обрабатывают 90% этиловым спиртом для удаления остатков метилмиристата. Отработанный этиловый спирт передают на очистку, восстановленный спирт может повторно использоваться в технологическом процессе. Далее микрокапсулы сушат в сушильном шкафу в течение 10-12 часов, до полного удаления этилового спирта. Готовые микрокапсулы собирают в технические ёмкости, обеспечивающие надлежащее хранение, и передают на дальнейшие стадии технологического процесса.

На основании результатов проведённых исследований и разработанной технологической схемы можно определить ключевые стадии и критические параметры технологического процесса – таблица 4.10.

Таблица 4.10 – Критические стадии технологического процесса получения микрокапсул

Наименование критической стадии	Контролируемый параметр	Обоснование
ВР 2.1 Смешивание растительных экстрактов	Скорость вращения барабана смесителя, время перемешивания	Нарушение условий смешивания приведёт к потере однородности массы и дозирования
ТП 3.2 Гомогенизация массы	Время и скорость перемешивания	Нарушение условий приведёт к потере однородности массы
ТП 4.1 Формирование микрокапсул	Скорость распыления, скорость диспергирования и перемешивания, градиент температуры	Нарушение условий приведёт к изменению размера и фракционного состава микрокапсул

4.1.3 Разработка оптимальной технологии получения микрокапсулированной формы гликлазида с оболочкой из полиэтиленгликоля

Как отмечалось ранее, гликлазид является одним из препаратов выбора в терапии сахарного диабета второго типа, что обусловлено его профилем безопасности, отсутствием риска возникновения гипогликемических состояний. Кроме того, гликлазид оказывает положительное влияние на течение

сопутствующих сахарному диабету сердечно-сосудистых патологий, что было неоднократно доказано в международных клинических исследованиях [133].

Несмотря на наличие достаточно оригинальной таблетированной формы с модифицированным высвобождением, представленной гидрофильной матричной системой, обеспечивающей однократный приём препарата, исследования по совершенствованию и разработке инновационных лекарственных форм гликлазида продолжаются. На сегодняшний день запатентован трансдермальный пластырь с гликлазидом [134] и разработана корректированная пероральная суспензия [135]. Следует отметить также разработку адгезивных буккальных пленок для лечения детей с диабетом посредством трансмукозальной доставки гликлазида [136].

В исследовании [137] описано получение мукоадгезивных микрокапсул гликлазида с использованием различных полимеров, предназначенных для перорального контролируемого высвобождения. Микрокапсулы гликлазида были получены методом ионного гелеобразования на основе альгината натрия с добавлением таких мукоадгезивных полимеров, как: натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, карбопол 934Р и гидроксипропилметилцеллюлоза. Активное вещество гликлазид было добавлено к полимерному раствору в соотношении 1:1. Эффективность микрокапсулирования находилась в диапазоне 65–80%, при этом авторами отмечены хорошая степень мукоадгезии: при pH 7,4 через 6 часов – от 12 до 32%, при pH 1,2 через 6 часов – от 35 до 68%. Было также обнаружено, что высвобождение препарата было медленным и продолжалось более 16 часов. Тестирование *in vivo* мукоадгезивных микрокапсул на белых крысах с диабетом продемонстрировало значительный антидиабетический эффект гликлазида. Авторами установлен устойчивый гипогликемический эффект, наблюдаемый в течение более длительного периода времени в случае мукоадгезивных микрокапсул на основе альгината натрия и натрий карбоксиметилцеллюлозы, и альгината натрия и карбопола 934Р, обусловленный медленным высвобождением и абсорбией гликлазида в течение более длительного периода времени. Гипогликемический эффект, полученный с

помощью мукоадгезивных микрокапсул, продолжался более 16 часов, тогда как гликлазид оказывал антидиабетический эффект только в течение 10 часов.

В аналогичном исследовании [138] были разработаны альгинат-метилцеллюлозные мукоадгезивные микрокапсулы с гликлазидом, полученные методом ионного гелеобразования. Авторами оптимизированы технологические параметры процесса получения микрокапсул с учётом эффективности инкапсуляции и высвобождения гликлазида. Микрокапсулирование характеризовалось высокой эффективностью инкапсуляции препарата (от $83,57 \pm 2,59\%$ до $85,52 \pm 3,07\%$), при этом время высвобождения гликлазида (50% препарата) составляло от 5 до 6 ч с достаточно хорошими параметрами мукоадгезии. Оценка размера частиц показала варьирование в диапазоне 0,75-0,95 мм. Исследования *in vivo* на крысах с диабетом, вызванным аллоксаном, показали значительный гипогликемический эффект, который наблюдался через 12 ч после перорального введения мукоадгезивных микрокапсул. Разработанные и оптимизированные авторами микрокапсулы гликлазида на основе альгината натрия и метилцеллюлозы подходят для пролонгированной системной абсорбции гликлазида с целью обеспечения стабильно низкого уровня глюкозы в крови и улучшения соблюдения пациентом режима лечения.

На основании имеющихся литературных данных по исследованию процесса инкапсулирования гликлазида [137,138] были проведены исследования по разработке микрокапсул с гликлазидом с оболочкой из ПЭГ-6000. Учитывая, что гликлазид практически не растворим в воде и, согласно БКС, относится к классу II, использование ПЭГ-6000 может улучшить фармакокинетические характеристики гликлазида, обеспечив необходимый уровень элонгации.

Учитывая результаты исследований, представленных в разделах 4.1.1 и 4.1.2, были предложены модельные составы микрокапсул (таблица 4.11), содержащие гликлазид, а также комбинацию фитосубстанции и гликлазида, при этом для получения микрокапсул выбрано соотношение «ЛВ: П» - 1:1.

Таблица 4.11 – Состав опытных серий микрокапсул гликлазида с оболочкой из ПЭГ-6000

Компоненты*	Состав	
	13	14
Гликлазид	10,0	3,0
Экстракт галеги	-	1,0
Экстракт солодки	-	6,0
Экстракт мяты	-	3,0
ПЭГ-6000	10,0	13,0

* – количества компонентов указаны в граммах

Получение микрокапсул осуществляли согласно методике, описанной в разделе 4.1.2.

Эффективность процесса микрокапсулирования оценивали на основании суммарного выхода продукта и эффективности инкапсулирования, результаты представлены в таблице 4.12.

Таблица 4.12 – Характеристика процесса микрокапсулирования

Состав	Соотношение «ЛВ: П»	Выход, % масс	Эффективность инкапсулирования, %
13	1:1	96,7 ± 2,5	95,4 ± 2,9
14	1:1	92,3 ± 2,3	92,0 ± 4,9

Для определения оптимальной скорости диспергирования образцы микрокапсул составов 13 и 14, полученные при скорости диспергирования 300, 450 и 600 об/мин, были охарактеризованы по размеру согласно ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ» ГФ XIV издания (методика аналогична ГФ XV издания). Результаты представлены в таблицах 4.13 и 4.14.

Результаты фракционного анализа свидетельствуют об уменьшении размера микрокапсул при возрастании скорости диспергирования, что также соответствует теоретическим основам процесса микрокапсулирования. Оптимальная скорость диспергирования микрокапсул составляет 450 об/мин, при этом суммарная доля целевых фракций микрокапсул (100-500 мкм) составляет: состав 13 – 86,2% и состав 14 – 88,17%.

Таблица 4.13 – Анализ фракционного состава микрокапсул (состав 13), полученных при различных скоростях перемешивания

Скорость работы мешалки, об/мин	Фракционный состав, %						
	< 0,1 мм	0,1-0,2 мм	0,2-0,4 мм	0,4-0,5 мм	0,5-0,8 мм	0,8-1,0 мм	1,0-2,0 мм
300	0,25	5,69	5,31	30,07	32,70	12,03	13,95
450	6,98	23,14	41,01	22,05	3,26	1,82	1,74
600	20,41	16,24	12,68	21,67	12,44	8,37	8,19

Таблица 4.14 – Анализ фракционного состава микрокапсул (состав 14), полученных при различных скоростях перемешивания

Скорость работы мешалки, об/мин	Фракционный состав, %						
	< 0,1 мм	0,1-0,2 мм	0,2-0,4 мм	0,4-0,5 мм	0,5-0,8 мм	0,8-1,0 мм	1,0-2,0 мм
300	2,49	4,96	6,11	24,78	32,11	28,18	1,37
450	3,73	12,77	42,20	33,20	3,14	2,12	2,84
600	37,40	13,37	10,86	14,23	12,12	6,39	5,63

Увеличение скорости диспергирования до 600 об/мин приводит к увеличению доли фракции микрокапсул менее 100 мкм.

Дополнительно методом оптической микроскопии была проведена характеристика формы и размера микрокапсул состава 14 (анализировались фракции менее 0,5 мм), полученных при оптимальных технологических условиях. Исследование проводили согласно ОФС.1.1.0009.15 «Оптическая микроскопия» ГФ XIV издания (методика аналогична ГФ XV издания), результаты представлены в таблице 4.15.

Таблица 4.15 – Размер частиц микрокапсул, содержащих комбинацию фитосубстанции и гликлазида (состав 14)

Параметр	Фракция, мм			
	<0,1	0,1-0,2	0,2-0,4	0,4-0,5
S, мкм ²	5564,77 ± 1243,48	23141,71 ± 6888,29	53386,51 ± 11891,40	154443,05 ± 19945,86
D ₉ , мкм	83,70 ± 9,50	170,29 ± 22,95	259,55 ± 26,45	442,73 ± 28,24
L, мкм	81,91 ± 9,34	202,29 ± 23,52	301,31 ± 31,81	540,27 ± 71,18
B, мкм	78,48 ± 10,30	144,01 ± 27,09	248,56 ± 35,16	391,86 ± 31,86

Микрокапсулы преимущественно сферической формы, имеют гладкую, рельефную поверхность – рисунок 4.6.

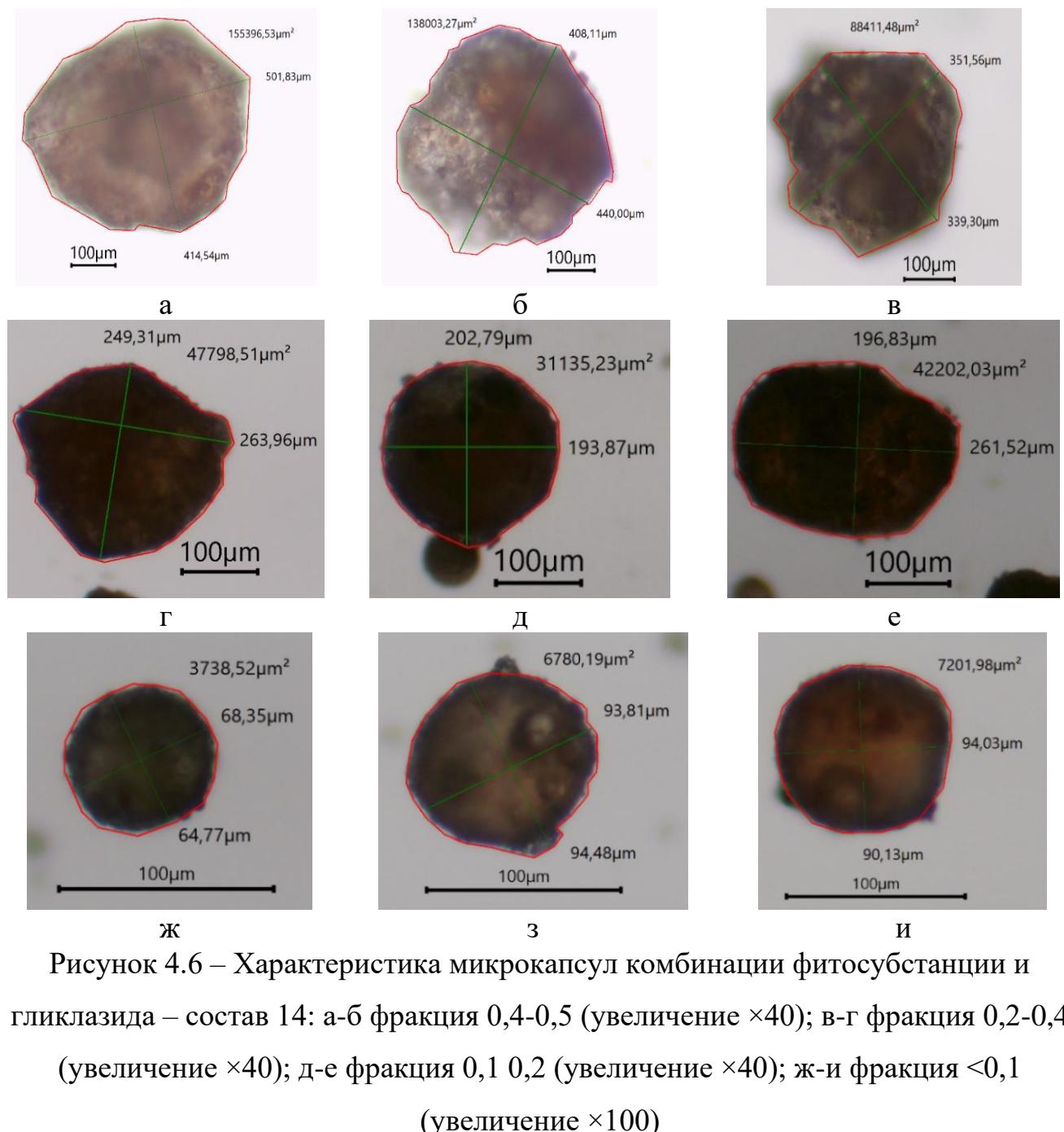


Рисунок 4.6 – Характеристика микрокапсул комбинации фитосубстанции и гликлазида – состав 14: а-б фракция 0,4-0,5 (увеличение $\times 40$); в-г фракция 0,2-0,4 (увеличение $\times 40$); д-е фракция 0,1 0,2 (увеличение $\times 40$); ж-и фракция <0,1 (увеличение $\times 100$)

Полученные результаты исследований свидетельствуют о возможности получения предложенных составов микрокапсул (состав 13 и 14) по технологической схеме, описанной в разделе 4.1.2, при следующих

технологических условиях: соотношение «ЛВ:П» - 1:1; скорость диспергирования – 450 об/мин; соотношение фаз составляет 1:5.

4.2 Биофармацевтические исследования микрокапсул гликлазида (in vitro)

Биофармацию определяют, как науку, изучающую биологическое действие лекарственных препаратов в зависимости от качественного и количественного многофакторного воздействия на активное и вспомогательные вещества в процессе производства, хранения, транспортировки и применения лекарственного препарата. Основной задачей биофармацевтических исследований является анализ ключевых фармацевтических факторов на фармакологическую активность лекарственного препарата [139-141]. Обоснование используемых в процессе получения лекарственной формы вспомогательных веществ и технологических решений является важной стадией в успешной разработке лекарственного препарата. Ключевыми биофармацевтическими свойствами, определяемыми биофармацевтическими факторами и влияющими на абсорбцию твёрдых лекарственных форм, являются: высвобождение фармакологически активного вещества из лекарственной формы; стабильность растворенного вещества в физиологических жидкостях; транспорт лекарственного вещества через биологические мембранны [142,143]. Таким образом, проведение биофармацевтических исследований разработанных составов микрокапсулированных форм гликлазида, в том числе в комбинации с фитоэкстрактами, позволит выявить перспективы использования данных форм гликлазида, являясь одним из этапов фармацевтической разработки.

Биофармацевтические исследования образцов микрокапсул, содержащих гликлазид (состав 13), а также комбинацию гликлазида и фитосубстанции (состав 4 и 14) – таблица 4.16. Исследование проводили методом диализа через целлофановую мембрану марки «Купрофан», толщиной 45 мкм, навеску микрокапсул с содержанием гликлазида 0,06 грамм помещали на целлофановую

плёнку диализатора, количественное определение гликлазида в диализате проводили через 15, 30, 45, 60 и 90 минут спектрофотометрически относительно стандартного образца гликлазида.

Таблица 4.16 – составы микрокапсулированных препаратов для биофармацевтических исследований (*in vitro*)

Компоненты*	Состав, г		
	4	13	14
Гликлазид	3,0	10,0	3,0
Экстракт галеги	1,0	-	1,0
Экстракт солодки	6,0	-	6,0
Экстракт мяты	3,0	-	3,0
Желатин	13,0	-	-
Глицерин	1,3	-	-
Вода очищенная	29,9	-	-
ПЭГ-6000	-	10	13,0

Результаты оценки высвобождения гликлазида из микрокапсулированных форм представлены на рисунке 4.7 как среднее значение серии 5 измерений.

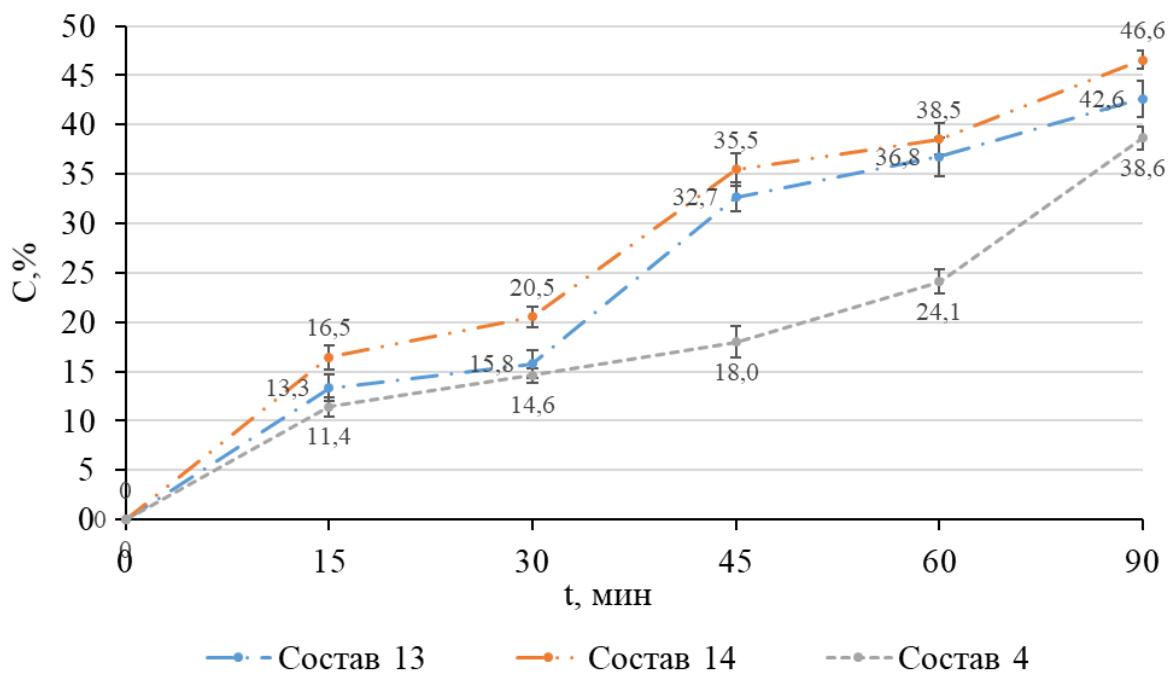


Рисунок 4.7 – Результаты биофармацевтических исследований (*in vitro*) микрокапсулированных форм гликлазида

Наибольшая степень высвобождения гликлазида наблюдается из микрокапсулированной формы дополнительно содержащей фитосубстанцию (состав 14). Через 90 минут эксперимента обеспечивается высвобождение $46,6 \pm 0,9\%$ гликлазида, в то время, как из микрокапсул, содержащих гликлазид (состав 13), через 90 минут высвобождение составило $42,6 \pm 1,9\%$. Желатиновые микрокапсулы, содержащие гликлазид в комбинации с фитосубстанцией, обеспечивают медленное высвобождение в течение 60 минут, и к 90 минуте эксперимента достигает $38,6 \pm 1,2\%$.

Представленные профили высвобождения обусловлены вспомогательными веществами, образующими оболочку микрокапсул. Как известно, желатин относится к группе набухающих высокомолекулярных соединений, при этом образуются вязкие системы, обеспечивающие более медленную диффузию лекарственных веществ. В то время, как ПЭГ-6000 является водорастворимым полимером, и высвобождение действующих веществ из микрокапсулированной формы будет обусловлено скоростью растворения оболочки микрокапсул в биологических жидкостях.

4.3 Технологические свойства микрокапсул

Учитывая возможность использования микрокапсул как полупродукта для получения пролонгированных твёрдых лекарственных форм, важным этапом разработки является оценка технологических свойств микрокапсул. Одним из ключевых технологических параметров является сыпучесть – способность порошкообразного материала образовывать непрерывный устойчивый поток при высыпании из ёмкости под действием силы тяжести. Степень сыпучести является комплексной характеристикой и зависит от гранулометрического состава, насыпной плотности, характера формы и поверхности частиц, влажности материала. Однако влияние различных факторов на сыпучесть материала неоднозначна, поэтому для оценки степени сыпучести рекомендуется определять ряд технологических и физико-химических параметров материала: собственно,

сыпучесть (скорость протекания порошка через отверстие), насыпной объём до и после уплотнения, угол естественного откоса [144-146].

Учитывая результаты исследований, представленных в разделах 4.1 и 4.2, оптимальные составы микрокапсул были проанализированы по комплексному показателю сыпучести, результаты представлены в таблице 4.17. Анализ проводили согласно ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» ГФ XIV издания (методики аналогичны ГФ XV издания).

Таблица 4.17 – Комплексные показатели степени сыпучести микрокапсул

Показатель	Состав					
	3	4	9	10	13	14
Сыпучесть г/с	8,49	7,04	9,24	8,79	10,12	6,79
Угол естественного откоса, градус	33	31	35	30	29	37
Насыпная плотность до уплотнения, г/мл	0,613	0,661	0,605	0,651	0,695	0,518
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл	0,708	0,725	0,735	0,725	0,802	0,636
Индекс Хауснера	1,15	1,15	1,23	1,13	1,15	1,23
Индекс Кара	13,4	13,1	18,7	11,2	13,3	18,6

По итогам анализа результатов определения сыпучести и угла естественного откоса для составов 10 и 13 характерна «отличная» («очень хорошая») степень сыпучести, для составов 3 и 4 – «хорошая» степень сыпучести. Сыпучесть состава 9 соответствует значению «очень хорошая», однако значение угла естественного откоса находится на границе значений «хорошая» – «удовлетворительная». Состав 14 характеризуется «хорошей» сыпучестью, однако стоит отметить, что угол естественного откоса находится в референтных значениях ($36\text{--}45^\circ$), соответствующих «удовлетворительной» сыпучести.

Индекс Хауснера и индекс Кара позволяют оценить, как сыпучесть, так и прессуемость материала, и имеет важное значение при анализе степени сыпучести. По результатам расчётов представленным в таблице 4.17 можно отметить «хорошую» сжимаемость, характерную для составов 3, 4, 10 и 13, и «среднюю», характерную для составов 9 и 14. Согласно ГФ XV издания

ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков» индексы Кара и Хауснера, характерные для составов 3, 4, 10 и 13 соответствуют для материалов, имеющих «хорошую» сыпучесть, а для составов 9 и 14 – «приёмлемую».

4.4 Фармакологические исследования микрокапсул

4.4.1 Фармакологические исследования желатиновых микрокапсул

Изучение противодиабетической активности микрокапсул комбинированной фитосубстанции с оболочкой из желатина проводили на крысах самцах *Wistar* с аллоксан-индуцированной моделью сахарного диабета второго типа. В качестве объекта исследования были выбраны микрокапсулы с фитосубстанцией – состав 3. Методика постановки аллоксанового сахарного диабета второго типа представлена в главе 2. Эффективность микрокапсул изучали после однократного введения, накопительный эффект оценивали на седьмые и четырнадцатые сутки применения микрокапсул путём проведения теста на резистентность к пероральной глюкозе. Методика проведения теста представлена в главе 2.

Методом парных аналогов было сформировано 3 группы животных ($n=9$) с сахарным диабетом, с концентрацией глюкозы в крови более 20 ммоль/л, также была сформирована 4 группа интактных животных ($n=9$) без сахарного диабета с целью мониторинга нормального уровня глюкозы. В качестве препарата сравнения использовали таблетки гликлазида с модифицированным высвобождением. Группе 1 вводили микрокапсулы, содержащие растительные экстракты (состав 4) в пересчёте на фитосубстанцию 500 мг/кг, группе 2 – препарат сравнения в дозе (таблетки гликлазида) 60 мг/кг, группе 3 – микрокапсулы плацебо, группе 4 вводили эквивалентное по объёму исследуемым препаратам количество воды очищенной в качестве плацебо. Расчёт доз проводили с учётом соответствующих коэффициентов пересчёта, дизайн исследования представлен на рисунке 4.8.

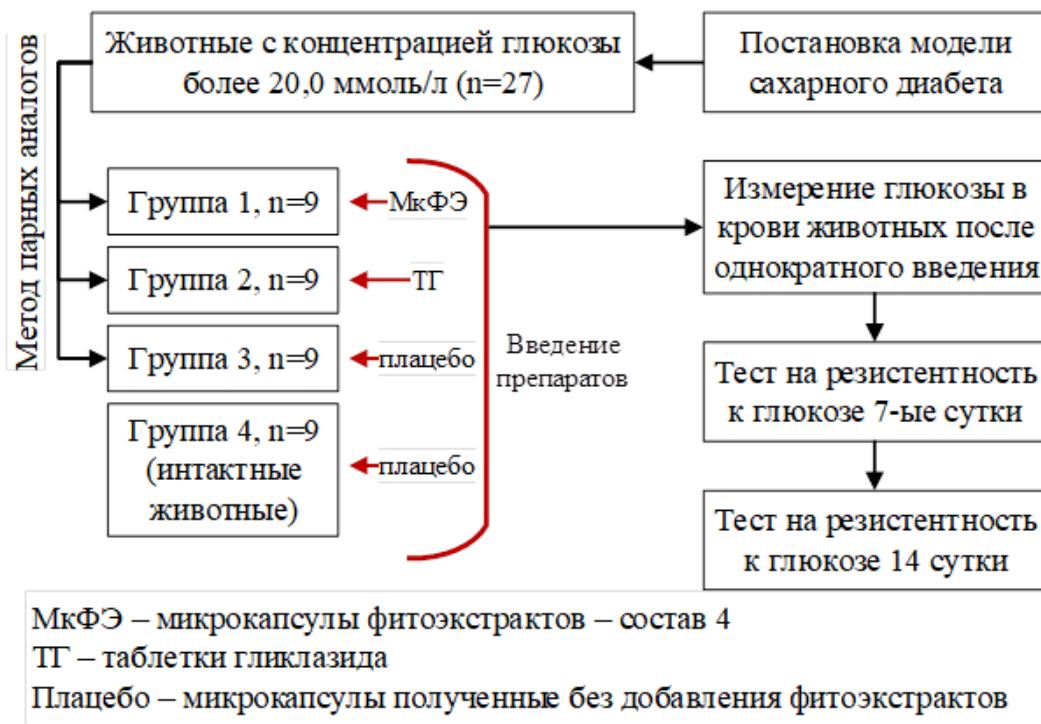


Рисунок 4.8 – Дизайн сравнительного исследования специфической активности микрокапсул фитокомпозиции

Оценку гипогликемического действия микрокапсул проводили после однократного перорального введения (рисунок 4.9) и с проведением теста на резистентность к пероральному введению глюкозы на седьмые (рисунок 4.10) и четырнадцатые (рисунок 4.11) сутки.

Исходный уровень глюкозы в крови животных с сахарным диабетом значимо не отличался и находился в диапазоне от 20,7 до 21,3 ммоль/л, концентрация глюкозы в крови интактных животных составляла 7,3 ммоль/л. Статистически значимое снижение концентрации глюкозы в крови животных после однократного введения исследуемых препаратов наблюдалось: в группе 1 через 6 часов на 33,2% ($p<0.05$), в группе 2 через 4 часа на 30,0% ($p<0.05$). В группе 3 концентрация глюкозы на протяжении всего эксперимента находилась на высоком уровне. В группе 4 концентрация глюкозы в крови животных оставалась на физиологическом уровне на протяжении всего времени эксперимента.

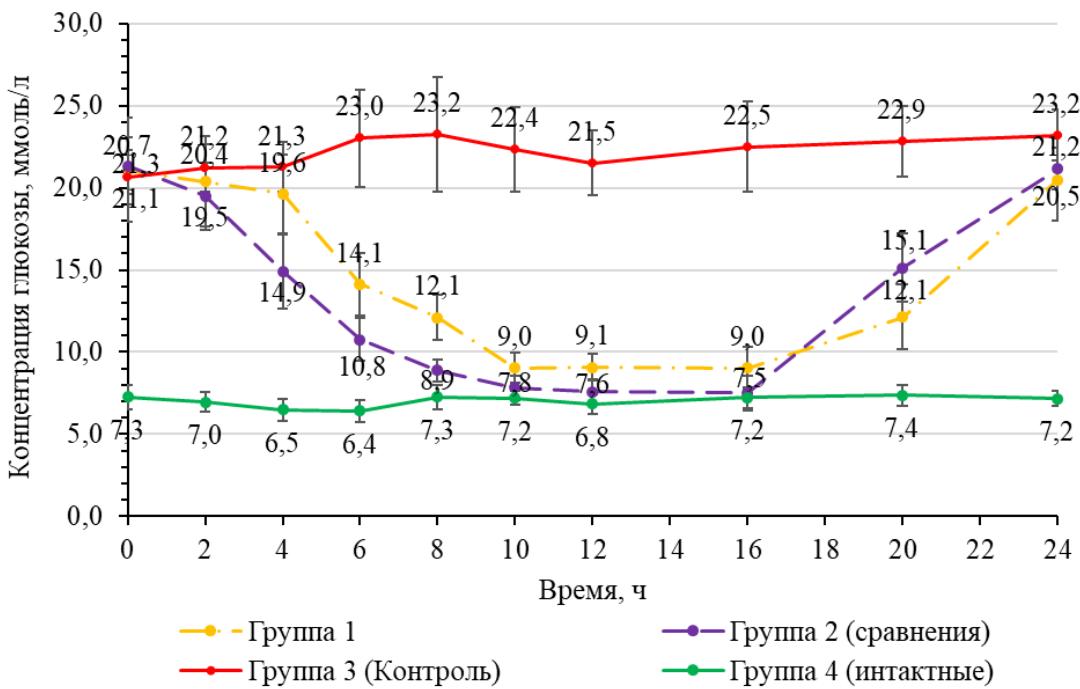


Рисунок 4.9 – Динамика изменения концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных после однократного введения препаратов

Максимальное снижение концентрации глюкозы в крови животных, получающих микрокапсулы с фитокомпозицией (в % от исходного уровня), составляло 57,3% через 10 часов после однократного введения препарата. Уровень гликемии был стабилен в течение 6 часов (10-16 час эксперимента), однако достижение физиологического уровня не наблюдалось, но стоит отметить, что средние значения концентрации глюкозы в крови животных, получающих микрокапсулы фитосубстанции, в интервале 6-20 часов имеют статистически значимые отличия от контрольной группы ($p < 0.05$).

При проведении сравнительного анализа гипогликемического действия микрокапсул фитосубстанции и препарата сравнения стоит отметить схожий профиль нарастания эффекта в течение первых 10 часов исследования, при этом статистически значимые различия в средних значениях концентрации глюкозы в крови животных отсутствуют, что свидетельствует о сопоставимом гипогликемическом эффекте. В интервале с 10 до 16 час наблюдаются статистически значимые отличия в эффективности микрокапсул с

фитосубстанцией и препарата сравнения. Однако следует отметить, что повышение уровня глюкозы в крови животных, наблюдаемое через 22 часа после введения исследуемых препаратов, на 20,5% меньше в группе 1 в сравнении с группой 2 и является статистически значимым ($p < 0,05$).

Дальнейшее исследование было посвящено изучению накопительного эффекта, характерного для данной комбинации фитоэкстрактов (глава 3). На рисунке 4.10 и 4.11 представлены результаты теста на резистентность к пероральной глюкозе на седьмые и четырнадцатые сутки при ежедневном введении микрокапсулированного фитопрепарата. Методика проведения теста представлена в главе 2.

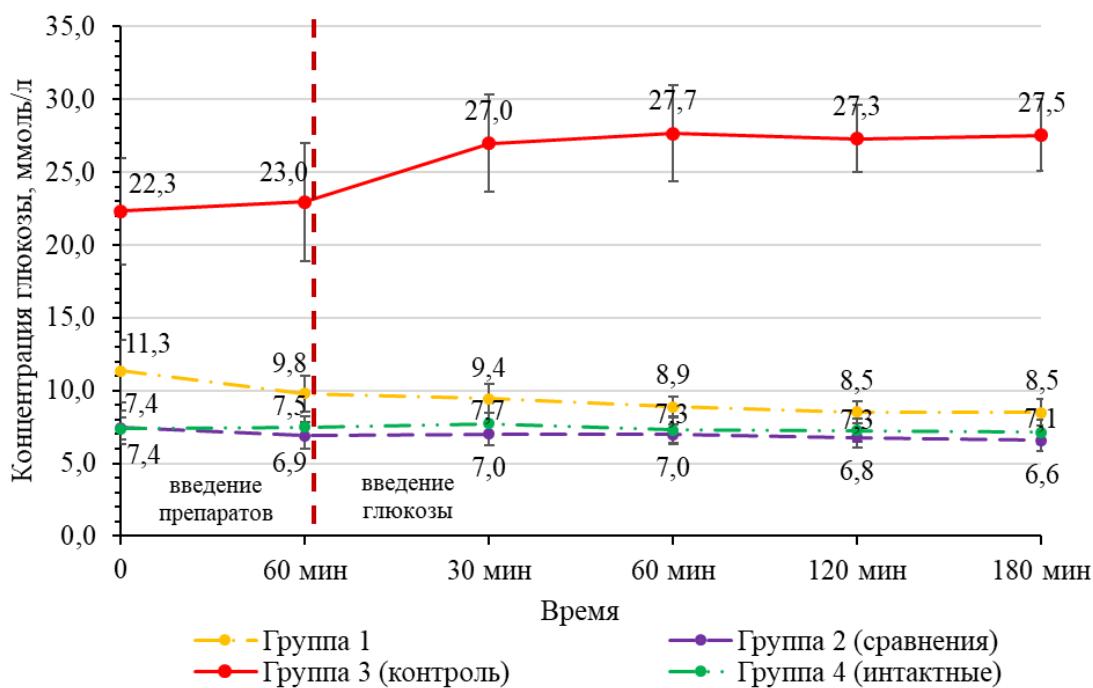


Рисунок 4.10. – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (7-ые сутки)

Концентрация глюкозы в крови животных на седьмые сутки составила: в группе 1 – $11,3 \pm 2,1$ ммоль/л, в группе 2 – $7,4 \pm 1,2$ ммоль/л, в группе 3 – $22,3 \pm 3,7$ ммоль/л (до введения препаратов). Концентрация глюкозы в крови животных

группы 1 на фоне ежедневного введения разработанного препарата снизилась на 46,4% ($p<0.05$) от первоначального уровня. Через час после введения исследуемых препаратов статистически значимое ($p<0.05$) снижение уровня глюкозы наблюдалось в группе 1. При этом стоит отметить, что концентрация глюкозы в крови животных в группе 1 на 49,3% меньше, чем в крови животных контрольной группы.

После перорального введения 5% раствора глюкозы в группах 1 и 2 повышения уровня глюкозы в крови животных не наблюдалось, что свидетельствует о наличии резистентности к алиментарной глюкозе на фоне применения оригинального микрокапсулированного препарата.

Концентрация глюкозы в крови животных на четырнадцатые сутки составила: в группе 1 – $7,7 \pm 0,9$ ммоль/л, в группе 2 – $6,9 \pm 0,9$ ммоль/л, в группе 3 – $20,2 \pm 3,4$ ммоль/л (до введения препаратов) – рисунок 4.11.

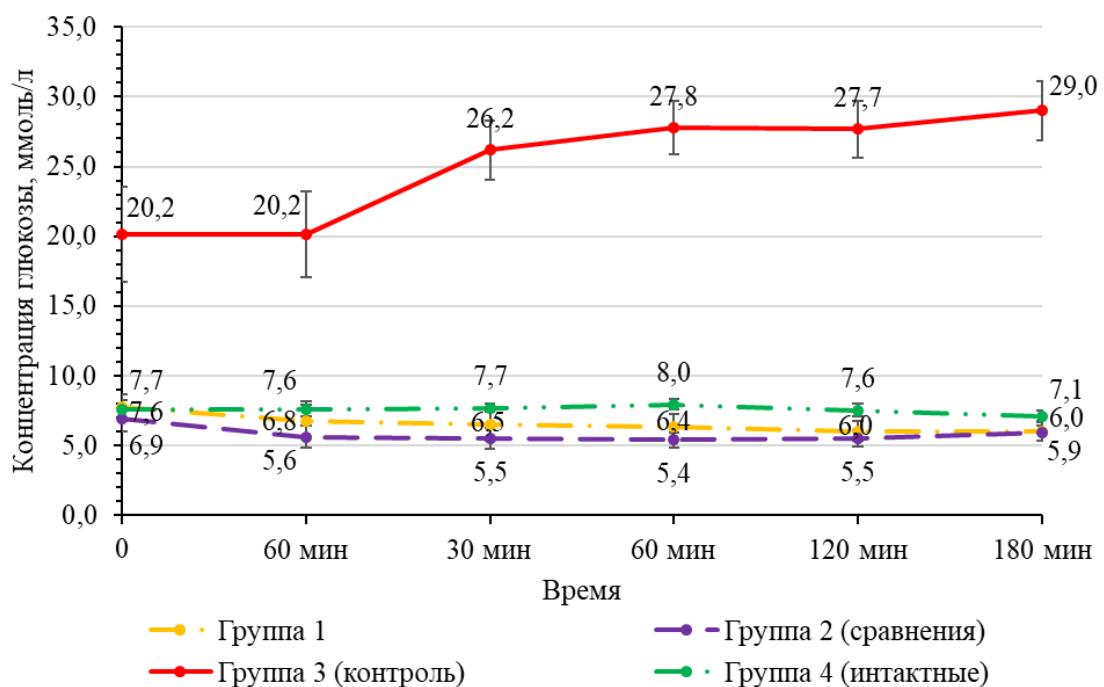


Рисунок 4.11. – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (14-ые сутки)

Через час после введения исследуемых препаратов наблюдалось значимое снижение уровня глюкозы в крови животных группы 1, получающих оригинальный микрокапсулированный фитопрепарат. В группе 2 статистически значимого изменения глюкозы не наблюдалось.

После перорального введения раствора глюкозы в группах 1 и 2 не выявлено повышение концентрации глюкозы в крови. В контрольной группе концентрация глюкозы в крови животных возросла, при этом рост уровня гликемии наблюдался в течение всего времени эксперимента. Следует отметить, что гипогликемическая активность разработанного препарата сопоставима с эффективностью препарата сравнения на 14 сутки введения, что дополнительно подтверждает накопительный эффект фитокомпозиции.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о наличии выраженного накопительного гипогликемического эффекта микрокапсулированной формы фитосубстанции. Учитывая результаты исследований, представленные в главе 3, а именно результаты компьютерного моделирования и прогнозирования механизмов специфической активности фитосубстанции, и установленные профили антидиабетической активности, как фитосубстанции, так и её микрокапсулированной формы, представляется целесообразным рассмотреть варианты комбинирования фитосубстанции с синтетическими противодиабетическими препаратами. Учитывая результаты биофармацевтических исследований, представленных в разделе 4.2, комбинация фитосубстанции в исходном соотношении (1:6:3) с гликлазидом, заключенная в микрокапсулы с желатиновой оболочкой, может обеспечить достаточный уровень антидиабетического действия.

4.4.2 Фармакологические исследования микрокапсул с оболочкой из полиэтиленгликоля

Изучение противодиабетической активности микрокапсул комбинированной фитосубстанции с оболочкой из ПЭГ-6000 проводили на

крысах самцах *Wistar* с аллоксан-индуцированной моделью сахарного диабета второго типа, дизайн исследования представлен на рисунке 4.12. Методика постановки аллоксанового сахарного диабета второго типа представлена в главе 2. Эффективность микрокапсул изучали после однократного введения, накопительный эффект оценивали на седьмые и четырнадцатые сутки применения микрокапсул путём проведения теста на резистентность к пероральной глюкозе. Методика проведения теста представлена в главе 2.



Рисунок 4.12. – Дизайн сравнительного исследования специфической активности микрокапсул фитокомпозиции

Учитывая результаты проведённых биофармацевтических исследований и результаты оценки технологических параметров, в качестве объектов исследования были выбраны микрокапсулы, содержащие в качестве действующих веществ комбинацию экстрактов галеги, солодки и мяты в соотношении 5:7:3 –

состав 10, микрокапсулы, содержащие гликлазид – состав 13, и микрокапсулы, содержащие комбинацию фитосубстанцию и гликлазид – состав 14.

Согласно дизайну фармакологических исследований, животных с уровнем гликемии более 20 ммоль/л разделили на 5 групп ($n=9$) методом парных аналогов. Также была сформирована 6 группа интактных животных ($n=9$) без сахарного диабета с целью мониторинга изменений уровня глюкозы в рамках физиологической нормы. В качестве препарата сравнения использовали таблетки гликлазида с модифицированным высвобождением. Группе 1 вводили микрокапсулы, содержащие растительные экстракты (состав 10) в пересчёте на фитосубстанцию 500 мг/кг; группе 2 – микрокапсулы гликлазида (состав 13) в дозе 60 мг/кг в пересчёте на гликлазид; группе 3 – препарат сравнения в дозе (таблетки гликлазида) 60 мг/кг; группе 4 – микрокапсулы, содержащие комбинацию фитосубстанции и гликлазид – состав 14 в дозе 30 мг/кг в пересчёте на гликлазид; группе 5 – микрокапсулы плацебо; группе 6 вводили эквивалентное по объёму исследуемым препаратам количество воды очищенной в качестве плацебо. Расчёт доз проводили с учётом соответствующих коэффициентов межвидового пересчёта.

Оценку гипогликемического действия фитосубстанций проводили после однократного перорального введения. Обобщенные результаты представлены на рисунке 4.13 в виде гликемического профиля.

Исходный уровень глюкозы в крови животных с сахарным диабетом значимо не отличался и находился в диапазоне от 23,0 до 23,1 ммоль/л, концентрация глюкозы в крови интактных животных составляла $7,3 \pm 0,7$ ммоль/л. Статистически значимое снижение концентрации глюкозы в крови животных после однократного введения исследуемых препаратов наблюдалось через 2 часа после введения исследуемых препаратов ($p<0.05$) и нарастало в течение 6 часов. Максимальный гипогликемический эффект наблюдается через 8 часов после введения исследуемых препаратов, при этом концентрация глюкозы в крови животных уменьшилась на 52,4% в группе 1, на 60,4% в группе 2, на 63,9% в группе 3, на 63,2% в группе 4.

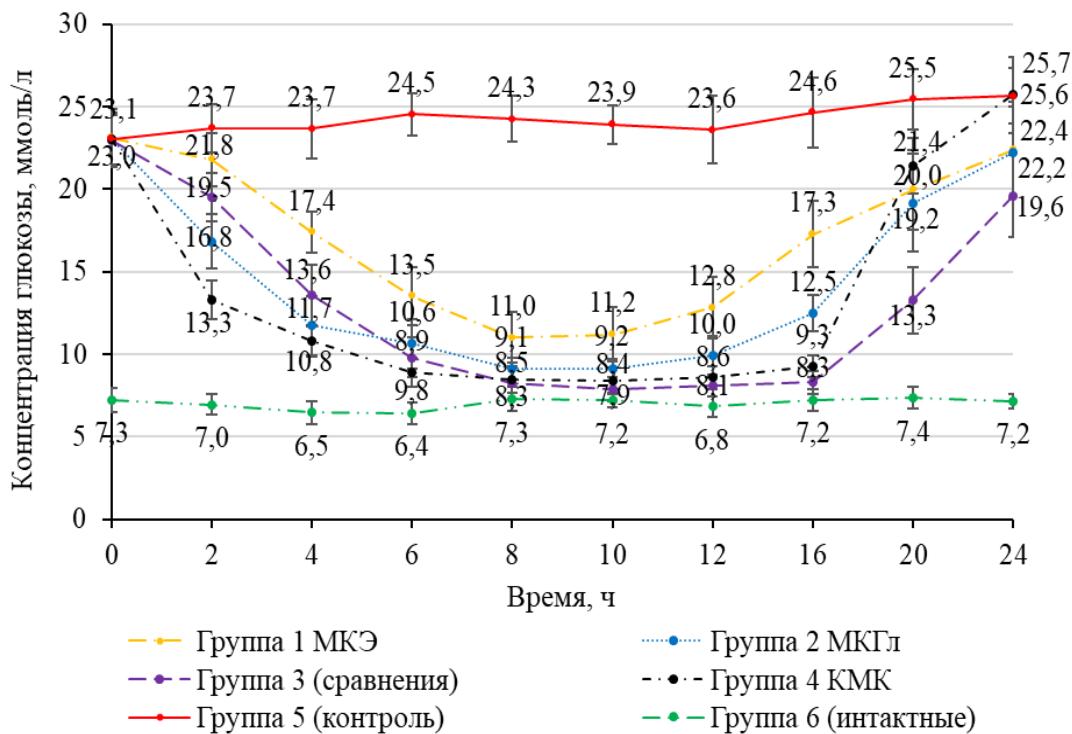


Рисунок 4.13 – Динамика изменения концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных после однократного введения препаратов

Дальнейшие исследования были посвящены изучению накопительного гипогликемического эффекта.

На рисунке 4.14 представлены результаты теста на резистентность к пероральной глюкозе на седьмые сутки при ежедневном введении микрокапсул. Методика проведения теста представлена в главе 2.

Концентрация глюкозы в крови животных на фоне ежедневного введения разработанных препаратов снизилась ($p<0,05$) от первоначального уровня в группе 1 на 41,5%, в группе 2 на 39,6%, в группе 3 на 70,0%, в группе 4 на 46,3%.

Через час после введения исследуемых препаратов статистически значимое изменение концентрации глюкозы в крови животных не наблюдалось.

После перорального введения 5% раствора глюкозы в группе 1 отмечено статистически значимое повышение концентрации глюкозы в крови животных на 12,5% с дальнейшим уменьшением уровня гликемии. В группе 2 и 3 отсутствовала реакция на алиментарную глюкозу.

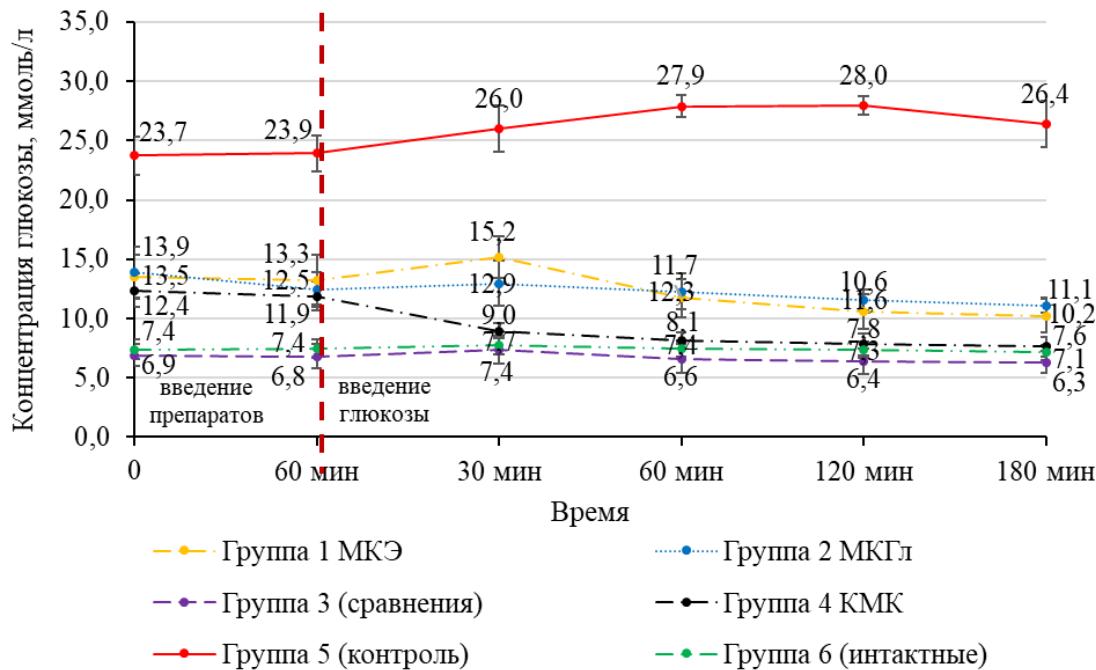


Рисунок 4.14 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (7-ые сутки)

Следует отметить, что после алиментарной нагрузки наблюдалось уменьшение концентрации глюкозы в крови животных группы 4 до физиологически значимого уровня.

На рисунке 4.15 представлены результаты теста на резистентность к пероральной глюкозе на четырнадцатые сутки при ежедневном введении микрокапсул.

Концентрация глюкозы в крови животных на четырнадцатые сутки составила: в группе 1 – $12,3 \pm 1,3$ ммоль/л, в группе 2 – $10,2 \pm 0,7$ ммоль/л, в группе 3 – $7,3 \pm 0,9$ ммоль/л, в группе 4 – $10,5 \pm 0,5$ ммоль/л, в группе 5 – $22,7 \pm 1,6$ ммоль/л, (до введения препаратов).

После введения исследуемых препаратов статистически значимое изменение глюкозы наблюдалось в крови животных группы 4, при этом данная тенденция сохранялась на протяжении эксперимента. После перорального введения 5% раствора глюкозы в группе 1 отмечено повышение концентрации

глюкозы в крови животных на 7,5%, что не является статистически значимым ($p>0,05$) с последующим уменьшением уровня гликемии.

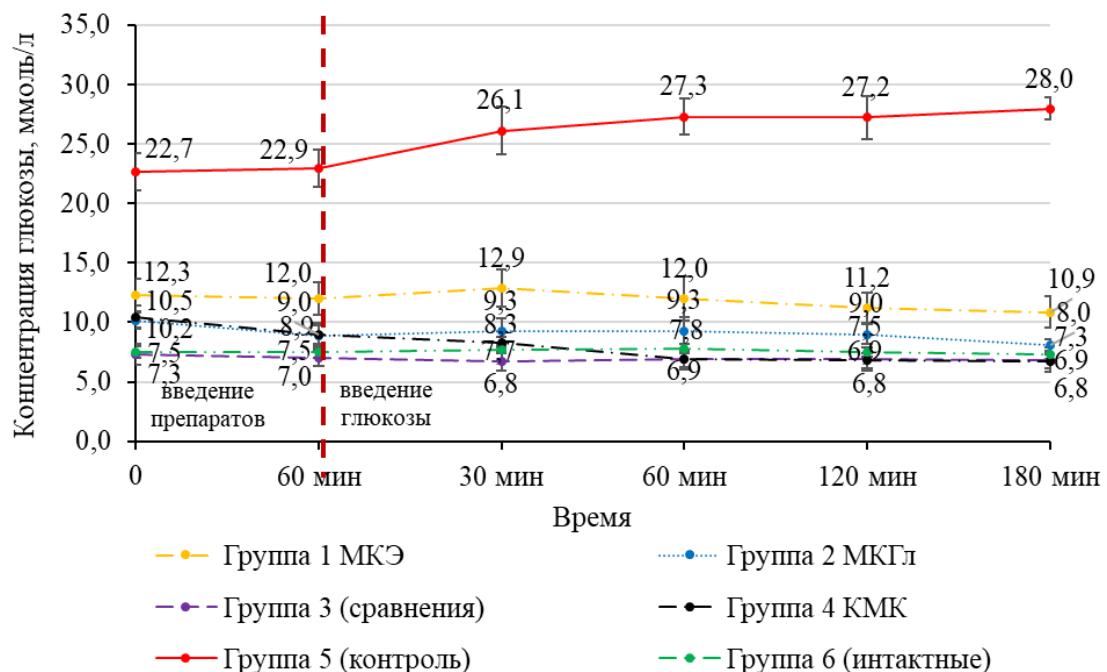


Рисунок 4.15 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (14-ые сутки)

При проведении сравнительного анализа гипогликемического действия микрокапсул с оболочкой из ПЭГ-6000 и препарата сравнения стоит отметить схожий профиль нарастания гипогликемического эффекта у исследуемых препаратов. При этом сопоставимый гипогликемический эффект наблюдался в группе животных, получающих терапию микрокапсулами с комбинацией фитосубстанции и гликлазида, и следует отметить, что содержание гликлазида в разработанном препарате в 2 раза меньше, чем в препарате сравнения. Таким образом, можно предположить потенцирование гипогликемического действия синтетического средства – гликлазида и фитосубстанции.

Заключение по главе 4

1. Впервые разработана и исследована оригинальная лекарственная форма на базе средства доставки – микрокапсул. Изучено влияние условий процесса микрокапсулирования с позиций количественного выхода и эффективности процесса. Экспериментально установлено оптимальное соотношением «ЛВ:П», обоснованы технологические условия проведения микрокапсулирования с позиций исследования фракционного состава совместно с микроскопическим анализом полученных микрокапсул. На основании проведенных исследований установлены оптимальные составы микрокапсул с оболочками из желатина и полиэтиленгликоля 6000.

2. Результаты экспериментальных исследований позволили предложить оптимальную технологическую схему производственного процесса, выделить и обосновать критические точки, которые могут повлиять на технологические показатели микрокапсул.

3. Результаты биофармацевтических исследований *in vitro* подтвердили имеющиеся теоретические данные о влиянии материала оболочки микрокапсул на высвобождение действующих веществ, а именно на высвобождение гликлазида.

4. Проведенные исследования технологических показателей микрокапсул, а именно определение сыпучести, прессуемости свидетельствуют о том, что выбранные условия технологического процесса являются оптимальными. А разработанные составы микрокапсул можно использовать для конструирования лекарственных форм с пролонгированным высвобождением.

5. Проведенные фармакологические исследования подтверждают выраженную пролонгированность антидиабетического эффекта, сопоставимого по продолжительности и степени выраженности с препаратом сравнения – таблетки гликлазида. Подтверждена резистентность к алиментарному фактору гипергликемии.

ГЛАВА 5 РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ – СПАНСУЛЫ

5.1 Общая характеристика спансулы как лекарственной формы

Одной из важнейших задач при разработке инновационных лекарственных препаратов является обоснованный выбор лекарственной формы, обеспечивающий позитивный уровень фармакотерапии. Неправильно выбранная лекарственная форма может привести к изменению активности лекарственного средства и даже к полной потере эффективности. Особое значение выбор лекарственной формы имеет при создании лекарственных средств и систем с модифицированным высвобождением и с контролируемым высвобождением действующих веществ. Подобные лекарственные формы позволяют контролировать процесс доставки активных компонентов, управлять терапевтической эффективностью лекарственного средства, что в свою очередь позволяет избежать передозировки и увеличить продолжительность действия.

Что касается фармакологической эффективности, то лекарственные формы с модифицированным высвобождением охватывают различные типы характеристик высвобождения, включая формы с отсроченным и пролонгированным высвобождением. Формы с отсроченным высвобождением доставляют лекарство с определенной задержкой после его введения, но последующее высвобождение аналогично немедленной форме. Формы с пролонгированным или замедленным высвобождением разрабатываются для постепенного высвобождения лекарства в течение определенного периода времени. Однако важной проблемой при характеристике этих форм является прогнозирование поведения *in vivo* на основе свойств *in vitro*.

На сегодняшний день выделяют три основных типа контролируемого высвобождения лекарственных средств:

- системы, обеспечивающие постоянство концентрации действующего вещества в течение заданного промежутка времени;

- системы, обеспечивающие циклическое высвобождение действующего вещества в течение длительного периода;
- системы, обеспечивающие контролируемое высвобождение активного компонента под действием изменений в организме или внешних факторов.

Микрокапсулирование является одним из способов создания и поддерживания постоянной концентрации лекарственного средства в крови. Кроме того, как отмечалось ранее, микрокапсулирование позволяет улучшить технологические свойства фармацевтических субстанций. Полученные микрокапсулы могут быть самостоятельными лекарственными формами, либо применяться в форме суспензий, либо входить в состав более сложных систем.

На сегодняшний день на базе микрокапсул разрабатываются различные лекарственные формы. К примеру, микрокапсулы используют для получения пероральных суспензий с модифицированным высвобождением амоксициллина в течение длительного времени. Особый интерес представляют лекарственные препараты, полученные на базе микрокапсул в форме таблеток и капсул с модифицированным высвобождением. Желатиновые капсулы, заполненные микрокапсулами с оболочками разной толщины, обеспечивающие высвобождение активных компонентов на протяжении всего желудочно-кишечного тракта, способны обеспечить выраженную пролонгированность эффекта [147,148].

Впервые лекарственные препараты в капсулах с замедленным высвобождением, обеспечивающие доставку лекарственного средства в течение 12 часов после перорального приёма посредством быстрого высвобождения первоначальной немедленной дозы с последующим постепенным высвобождением оставшейся части лекарственного средства, были получены в 1952 году компанией Smith, Kline & French Laboratories. Данная лекарственная форма получила название Spansule (спансула) и обеспечивала двенадцатичасовое высвобождение декстроамфетамина сульфата (Dexedrine[®]) и комбинации фенилпропаноламина и хлорфенирамина (Contac[®]600). Данная технология

основывалась на контроле растворения ядра лекарственного средства с помощью барьерного покрытия, которое ограничивало контакт с жидкостями ЖКТ и таким образом обеспечивало контролируемое растворение [149]. На сегодняшний день имеются успешные разработки спансул, содержащих микрокапсулы с растворимой оболочкой, обеспечивающей контролируемое высвобождение в течении 24 часов таких лекарственных препаратов, как нифедипин, дилтиазем, верапамил [150].

Следует отметить, что в качестве наполнителя для капсул с модифицированным или пролонгированным высвобождением системы спансула, могут выступать не только микрокапсулы, но и пеллеты, и гранулы, покрытые оболочкой, обеспечивающей модифицированное высвобождение, пролонгированные микротаблетки, мягкие желатиновые капсулы, а также их комбинации. Так на фармацевтическом рынке зарегистрирован ряд лекарственных препаратов, представляющих собой форму спансул, заполненных различными модифицированными композициями – таблица 5.1.

Таблица 5.1 – Примеры лекарственных препаратов в форме спансул

Наименование ЛП	Содержимое капсул с модифицированным/пролонгированным высвобождением (спансулы)
Оmez®Д	домперидон – порошок омепразол – пеллеты, покрытые кишечнорастворимой оболочкой
Оmez®ДСР	домперидон – пеллеты с пролонгированным высвобождением омепразол – пеллеты, покрытые кишечнорастворимой оболочкой
Нейродикловит	диклофенак натрия – гранулы тиамин, пиридоксин, цианокобаломин – смесь порошков
Кетонал®ДУО	кетопрофен – пеллеты кетопрофен – пеллеты покрытые оболочкой (40%)
Дуодарт	дугастерид – мягкая желатиновая капсула тамсулозин – пеллеты
Левросо®Лонг	дифенгидрамин – микрогранулы мелатонин – таблетка, покрытая пленочной оболочкой
Диротон®Плюс	лизиноприл – таблетка индапамид – таблетка, покрытая пленочной оболочкой

Несмотря на достижения в области разработки пероральных пролонгированных/модифицированных таблетированных лекарственных

препаратов, достаточно широко изучаются возможности использования спансул в качестве пролонгированных/модифицированных форм доставки. Это обеспечивается определенными технологическими и биофармацевтическими преимуществами данной лекарственной формы. При этом следует отметить, что данные технологические изыскания охватывают различные фармакологические группы лекарственных средств.

Так, в исследовании [151] проведен сравнительный фармакокинетический анализ *in vitro* и *in vivo* новой твердой лекарственной формы трамадола в виде капсулы с модифицированным высвобождением (спансулы) и классической таблетированной формы с модифицированным высвобождением. Результаты, полученные авторами, свидетельствуют о сопоставимых профилях высвобождения трамадола из спансулы и таблетки в исследовании *in vitro*. В исследовании *in vivo* наблюдались большие различия между исследуемыми объектами по фармакокинетическим параметрам, особенно в случае применения спансулы. По мнению авторов исследования, данный эффект может быть связан с различиями в скорости высвобождения трамадола из лекарственных форм в желудочно-кишечном тракте.

Сравнительное исследование *in vitro/in vivo* фиксированной комбинации доксилиамина и пиридоксина в форме спансулы [152] (коммерческое наименование Cariban[®]) свидетельствуют о более предпочтительном профиле высвобождения действующих веществ и следовательно, схеме применения препарата в отличии от форм с немедленным и отсроченным высвобождением. Расширенный профиль растворения спансулы обеспечивает постепенное и устойчивое высвобождение действующих веществ в течение времени, что позволяет избежать недостатка дозы или высокой локальной концентрации активных веществ в случае форм с отсроченным высвобождением. По мнению авторов, преимуществом спансулы по сравнению с формой с немедленным высвобождением является сниженные колебания концентрации действующих веществ в плазме крови, обеспечивая более продолжительные эффекты при снижении побочных эффектов. Результаты исследования показывают, что

разработанная форма доксиламина и пиридоксина в форме спансулы обеспечивает высвобождение действующих веществ, характерное для препаратов с пролонгированным высвобождением, а также с ранним, постепенным и прогрессирующим высвобождением обоих компонентов, начиная с самого начала после перорального приёма до достижения полного растворения.

Группой зарубежных авторов были проведены сравнительные фармакокинетические исследования препаратов амброксола в форме спансулы и таблеток с немедленным высвобождением [153]. Оценка профиля высвобождения эквивалентных доз лекарственных форм амброксола *in vivo* свидетельствует о схожести фармакокинетических профилей амброксола в плазме крови для препаратов с немедленным высвобождением при двукратном применении препаратов. Авторы отмечают, что профили характеризуются наличием двух относительно острых пиков, за которыми следует крутой спад концентрации. В то время, как фармакокинетический профиль амброксола в плазме крови при приёме спансулы характеризовался постепенным увеличением концентрации с формированием одного пика, за которым следовало постепенное снижение концентрации в течение оставшегося 24-часового периода. Анализ вторичных фармакокинетических показателей позволил авторам дополнительно подтвердить и обосновать применение пролонгированной спансулы амброксола, как формы с более равномерным фармакокинетическим профилем.

Особый теоретический и практический интерес представляют исследования, проведенные индийскими и китайскими учёными в области разработки пролонгированных капсул – спансул с метопрололом [154,155]. При этом подход к формированию пролонгированного высвобождения строился на получении покрытых оболочкой матричных гранул метопролола в первом случае и получении микрокапсул метопролола, состоящих из этилцеллюлозы и ПЭГ-6000 во втором случае. Разработанные матричные гранулы с пролонгированным высвобождением в капсуле были способны поддерживать постоянный уровень метопролола в крови до 10-12 часов после перорального приёма. Однако, авторы отмечают более низкое значение C_{max} , и с большим значением t_{max} , по сравнению с

обычными таблетками. При этом AUC почти в 1,7 раза больше в случае применения капсул, чем после применения таблетированной формы метопролола. Значения C_{max} , t_{max} и AUC четко указывали на плавное поддержание концентрации метопролола в крови в течение более длительного времени после применения спансул. Спансулы, содержащие микрокапсулированную форму метопролола, обеспечивали высвобождение действующего вещества как в эксперименте *in vitro*, так и *in vivo*, в течение 18 часов. При этом авторы отмечают, что микрокапсулированный метопролол демонстрировал более медленное высвобождение *in vitro* по сравнению с классической таблетированной формой. Период полувыведения метопролола из крови на фоне применения спансулы с микрокапсулами был дольше, чем у обычных таблеток, а C_{max} значительно меньше. Таким образом, по мнению авторов спансулы с микрокапсулами могут обеспечить дополнительные преимущества за счёт снижения частоты приёма и минимизации побочных эффектов, учитывая более сглаженный профиль нарастания концентрации действующего вещества в крови.

Таким образом представленные результаты исследований, проведённых зарубежными учёными, свидетельствуют о перспективности использования модели спансулы при разработке лекарственной формы с пролонгированным высвобождением. Среди возможных способов пролонгирования действия микрокапсулирование является наиболее приемлемым с точки зрения динамики высвобождения действующих веществ. Частичное добавление действующего вещества в порошкообразном состоянии обеспечит уменьшение времени достижения терапевтической концентрации.

5.2 Выбор материала капсулы

В современной фармацевтической промышленности в качестве материала получения капсул используется желатин, при этом получаемые капсулы могут состоять из корпуса и крышечки, которые плотно входят друг в друга, такие капсулы называются твердыми. Другим вариантом являются мягкие капсулы,

образующие замкнутую цельную оболочку, получаемые по специальной технологии наполнения. Наибольшее распространение получили твёрдые желатиновые капсулы, наполненные твердыми, как правило, порошкообразными материалами, мягкие желатиновые капсулы, как правило, получают путём инкапсулирования жидких и пастообразных материалов. Капсула, как самостоятельная лекарственная форма, имеет ряд преимуществ по сравнению с другими твёрдыми лекарственными формами, а именно точность дозирования, корrigирующая способность, возможность корректировки локализации распада лекарственной формы, возможность корректировки биологической доступности, высокая производительность, относительная простота технологии производства, эстетичность. Отдельным этапом производственного процесса лекарственных препаратов в капсулах является производство самих твёрдых капсул. При этом стоит отметить, что на сегодняшний день в качестве основного материала оболочки может выступать не только желатин, но и прочие альтернативные материалы. Нежелатиновые капсулы получают с целью устранения нежелательных явлений, связанных с влажностью желатиновой оболочки, воздействием температуры окружающей среды, несовместимости компонентов лекарственного препарата с желатином. В качестве альтернативных материалов для производства capsules используют производные целлюлозы, поливиниловый спирт, природные полисахариды, пуллулан, синтетические полимеры метакриловой кислоты и др. Использование альтернативных материалов позволяет не только компенсировать нежелательные эффекты, возникающие при использовании желатина, но и придать капсулам специальные свойства, обеспечивающие модификацию высвобождения, повышенную устойчивость к механической обработке и факторам окружающей среды при хранении, в том числе влаго- и газопроницаемость [156-159].

Одним из альтернативных материалов для получения твёрдых капсул является гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ). Впервые твёрдые капсулы ГПМЦ были произведены в 1989 году компанией G.S. Technologies Inc., под торговой маркой «Vegicaps», как альтернатива желатиновым капсулам.

Процесс производства капсул на основе ГПМЦ осуществляется путём термического гелеобразования и схож с технологией производства твёрдых желатиновых капсул, включает использование штифтов, погружаемых в раствор ГПМЦ. При этом стоит отметить, что оборудование для производства таких капсул, как правило, требует некоторых технических модификаций, а именно использование нагретых штифтов. Это связано с тем, что гелеобразование ГПМЦ из раствора происходит при повышении температуры в то время, как при снижении температуры гель преобразуется в коллоидную взвесь, в отличие от раствора желатина. Чтобы избежать разжижения пленок, образованных на штифтах, температуру штифтов необходимо поддерживать и после погружения, чтобы поддерживать состояние геля до полного его затвердевания.

Однако, стоит отметить большую хрупкость оболочек капсул из ГПМЦ, что связано с меньшей пластичностью по сравнению с желатиновыми оболочками. Это приводит к дополнительной отбраковке дефектных капсул после снятия со штифтов и в процессе наполнения и закрытия капсул.

Для преодоления указанных проблем было предложено использовать стриппер с углублениями на внутренней поверхности для снятия капсул со штифтов, увеличить толщину сформированной пленки ГПМЦ и использовать дополнительные гелирующие агенты: каррагинан, пектин, курдлан, геллановая камедь и др. Кроме того, введение дополнительных гелеобразователей позволяет преодолеть явление обратного температурного гелирования и осуществлять производство оболочек капсул с использованием того же оборудования и условий, что и для твёрдых желатиновых капсул.

Однако, введение в состав оболочки капсулы из ГПМЦ дополнительных гелеобразователей приводит к замедлению распада/растворения оболочек капсул ГПМЦ, что было подтверждено как *in vitro*, так и *in vivo*. Таким образом, различные типы капсул из ГПМЦ могут иметь различные *in vitro* и *in vivo* биофармацевтические характеристики в отличии от твёрдых желатиновых капсул.

Как отмечалось ранее, оболочки ГПМЦ капсул содержат значительно меньше влаги (4-6%) по сравнению с твёрдыми желатиновыми капсулами (13-

16%), они более совместимы с гигроскопичными материалами. В то время, как физическая прочность оболочек ГПМЦ выдерживает широкий диапазон условий окружающей среды, твёрдые желатиновые капсулы легко становятся хрупкими и непригодными для использования при низкой влажности.

Сшивание желатина под влиянием альдегидных групп лекарственных веществ, в результате чего снижается растворение и скорость распада лекарственной формы, не характерно для капсул ГПМЦ в аналогичных условиях. Это делает капсулы ГПМЦ совместимыми с более широким спектром наполнителей за исключением некоторых окислителей.

Капсулы ГПМЦ рекомендованы для использования в порошковых ингаляторах. Это связано с тем, что желатиновые капсулы имеют относительно высокое содержание влаги по сравнению с капсулами ГПМЦ, поэтому взаимодействие порошкообразных лекарственных средств с желатиновой капсулой будет удерживать большую часть порошка, прилипающего к внутренним поверхностям капсул, в результате чего большая часть дозы не выйдет из устройства. Кроме того, было установлено, что капсулы ГПМЦ меньше подвержены трибоэлектризации, что также характерно для желатиновых капсул.

Также существенным преимуществом капсул ГПМЦ над желатиновыми является их растительное происхождение, что имеет более широкое признание среди отдельных групп потребителей [160-163].

Помимо ГПМЦ на сегодняшний день в качестве альтернативного материала для получения твёрдых капсул используют линейный полисахарид пуллулан.

Пуллулан представляет собой линейный полисахарид, полученный путём ферментации *aureobasidium pullulans*, образованный путём полимеризации повторяющихся единиц мальтотриозы, связанных α -1,4-гликозидными связями через α -1,6-гликозидные связи [164]. Yuanyuan Ding с соавторами [165] использовали пуллулан в качестве основного материала для получения твёрдых растительных капсул, результаты показали, что капсулы достаточно хрупкие, но тем не менее удовлетворяют требованиям, предъявляемым к твёрдым капсулам по форме, размеру, толщине оболочки и при закрытии были герметичны.

Пуллулан является подходящим кандидатом в качестве альтернативного материала для твёрдых капсул благодаря своим превосходным свойствам, включая отличное плёнкообразование, нетоксичность, отсутствие вкуса, биоразлагаемость, растворимость, прозрачность и др. Одним из наиболее важных параметров пуллулана является молекулярная масса полимера. Капсулы, полученные из пуллулана с высокой молекулярной массой, обладают достаточной прочностью и стабильностью. Однако, растворы пуллулана с высокой молекулярной массой образуют достаточно вязкие растворы, что усложняет производственный процесс и делает невозможным использование тех же технологических линий, что и для производства желатиновых капсул. Для получения твёрдых капсул с достаточной прочностью к пуллулану необходимо добавлять дополнительные гелеобразующие биополимеры, такие, как производные целлюлозы, камеди, каррагинан, альгинаты и др., а также пластификаторы [166,167]. Фармацевтической промышленностью выпускаются твёрдые капсулы на основе пуллулана с коммерческим названием PlantcapsTM.

В исследовании Parameswara Rao Vuddanda с соавторами [168] изучали влияние различных пластификаторов на пленку пуллулана, было установлено, что добавление глицерина может улучшить пластичность плёнок, полученных на основе пуллулана. Согласно результатам исследования [169], установлено, что использование смеси глицерина и сорбитола в качестве пластификаторов улучшает термическую стабильность капсул, уменьшает хрупкость капсул, увеличивая пластичность стенки. При этом авторы отмечают снижение гигроскопичности, газо- и паропроницаемости капсул при использовании смеси пластификаторов.

Несмотря на то, что имеются достаточно успешные внедрения таких материалов, как ГПМЦ и пуллулан в производстве твёрдых капсул, поиски альтернативных материалов в данной области не останавливаются.

На сегодняшний день достаточно большое количество исследований посвящено разработке и анализу твёрдых капсул на основе каррагинана. Несмотря на то, что они находятся на ранней стадии разработки, установлено, что

каррагинановые твёрдые капсулы обладают свойствами, сопоставимыми с желатиновыми капсулами, и демонстрируют хороший потенциал в качестве альтернативы, особенно благодаря способности модифицироваться другими полимерами для создания композита с целевыми свойствами для получения модифицированной системы доставки лекарств. Каррагинан — это сульфатированный полисахарид, который классифицируется на основе положения связи ангидрогалактозы по количеству сульфатированных эфирных групп. Наибольший интерес в качестве материала для получения твёрдых капсул вызывает к-каррагинан. Молекулярная масса к-каррагинана находится в диапазоне от 100 до 1000 кДа, он представляет собой анионный полимер, обладающий превосходными гелеобразующими, загущающими, стабилизирующими и эмульгирующими свойствами.

Каррагинан обладает некоторыми биологическими свойствами, такими как: антиоксидантное, противомикробное, иммуномодулирующее, противовирусное, противоопухолевое, антикоагулянтное свойство.

Однако к-каррагинан подвергается синерезису при высыхании из геля в плёнку, что приводит к её хрупкости. Поэтому необходимо введение сшивающего агента для уменьшения хрупкости путём укрепления полимерных сетей, как правило, в этой роли выступают катионы металлов. В процессе гелеобразования происходит изменение конформации молекул к-каррагинана от клубковой до спиральной формы с последующей агрегацией спиралей, что приводит к образованию геля. Примечательно, что добавление катионов металлов может способствовать последовательности конформации и ассоциации спиралей для конечной стабильности геля к-каррагинана. Хорошо известно, что реологические свойства раствора каррагинана демонстрируют тесную связь с типом металлической соли и её плотностью заряда. Конкретные катионы, такие как K^+ и Ca^{2+} , влияют на конформационное преобразование спирали и увеличивают их агрегацию. Также следует отметить, что в процессе гелеобразования процент спиралей увеличивается с понижением температур [170-174].

В исследовании [175,176] капсулы на основе к-каррагинана были успешно получены в качестве альтернативы желатиновым капсулам. Технологическое решение заключалось в сшивании к-каррагинана с мальтодекстрином и пластификации с помощью сорбитола. Анализ морфологии поверхности капсул показал, что материал имеет очень маленькие поры. Степень набухания в кислой среде разработанных капсул была в 3,6 раза выше, чем у желатиновых капсул. Это указывает на способность капсул к более медленному распаду. Авторы отмечают, что предложенный состав твёрдых капсул может рассматриваться в качестве альтернативы классическим твёрдым желатиновым для разработки пероральной системы доставки лекарств.

Учитывая, казалось бы, успешные попытки использования альтернативных желатину материалов для получения твёрдых капсул, широкого практического внедрения для фармацевтических капсул эти вещества не нашли, поэтому до настоящего времени фармацевтическая промышленность пользуется преимущественно твёрдыми желатиновыми капсулами. Это объясняется тем, что принципиальная идея капсулонаполнения заключается в использовании твёрдых желатиновых капсул, учитывая их стабильные, не зависящие от технологических аспектов, параметров распадаемости и скорости растворения. В то же время, наиболее оптимальным и технологически обоснованным способом модификации и пролонгирования высвобождения лекарственных средств в форме капсул является изменение свойств наполняемого объекта. Поэтому нами были выбраны твёрдые капсулы из желатина для получения спансулы, наполненной смесью порошков и микрокапсул.

5.3 Разработка состава и технологии спансул

5.3.1. Обоснование выбора вспомогательных веществ при разработке спансулы

На основании результатов проведённых исследований, представленных в главе 4, для получения спансулы были выбраны микрокапсулы с оболочкой из желатина, содержащие в качестве инкапсулята комбинацию гликлазида и фитосубстанцию – состав 4. Учитывая достаточную вариабельность фракционного состава полученных микрокапсул (раздел 4.1.1), для включения в состав спансулы выбран размер микрокапсул, находящийся в диапазоне 0,2-0,5 мкм. Согласно проведённым исследованиям, данные фракции составляют наибольшую долю продукта, а дополнительные исследования показателей сыпучести характеризуют данную фракцию как «хорошая», что особенно важно при выборе состава и конструировании технологического процесса производства.

Согласно рекомендациям по применению гликлазида для лечения сахарного диабета второго типа, рекомендуемые терапевтические дозы лежат в диапазоне от 30 до 120 мг/сутки однократно в форме таблеток с модифицированным высвобождением и определяются уровнем гликемии [177,178]. Учитывая, что форма спансулы предполагает как отсроченное – пролонгированное, так и немедленное высвобождение, для обеспечения последнего в состав спансулы был введен гликлазид из расчёта 30 мг/доза. Дополнительное введение свободного гликлазида позволит обеспечить его быстрое всасывание и начало антидиабетического действия с наименьшим риском развития гипогликемии [179], в то время, как микрокапсулированный гликлазид и фитосубстанция обеспечат отсроченное высвобождение и как следствие, пролонгирование эффекта.

Согласно литературным данным [180] гликлазид характеризуется плохой степенью сыпучести, что затрудняет технологический процесс получения лекарственных форм, а учитывая важность данного показателя в технологии

капсулирования сыпучих смесей, возникает необходимость дополнительного введения вспомогательных веществ, улучшающих сыпучесть гликлазида.

В качестве основных групп вспомогательных веществ в составе содержимого твёрдых капсул (спансул), улучшающих степень сыпучести, можно выделить такие распространенные наполнители – разбавители как: микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, манит, крахмал, магния и кальция фосфат двухосновной, и скользящие вещества - кальция и магния стеарат, тальк, аэросил [144]. Учитывая специфику показаний, в качестве наполнителей были выбраны микрокристаллическая целлюлоза, крахмал и пласдон K25, а в качестве вспомогательных веществ, повышающих скольжение, аэросил и магния стеарат. Модельные составы предложенных композиций содержимого спансулы представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Составы модельных композиций содержимого спансулы

Компоненты	Состав		
	1	2	3
Микрокапсулы гликлазида с фитосубстанцией	0,273	0,273	0,273
Гликлазид	0,03	0,03	0,03
МКЦ 102	0,03	-	-
Пласдон K25	-	0,03	-
Крахмал	-	-	0,03
Магния стеарат	0,001	0,001	0,001
Аэросил	0,001	0,001	0,001

Для выбора оптимального состава дальнейшие исследования были посвящены анализу технологических параметров смеси действующих и вспомогательных веществ для заполнения спансулы по комплексному показателю – «степень сыпучести». Исследования включали определение сыпучести (скорость протекания порошка через отверстие), угол естественного откоса, насыпную плотность, индекс Хауснера и индекс Кара. Определения проводили согласно ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» ГФ XIV издания (методики аналогичны ГФ XV издания), методики представлены в главе 2.

Результаты испытаний представлены в таблице 5.3 как среднее значение \pm стандартное отклонение.

Таблица 5.3 – Комплексные показатели степени сыпучести модельных составов

Показатель	Состав		
	1	2	3
Сыпучесть г/с	6,07 \pm 0,34	8,31 \pm 0,44	4,81 \pm 0,36
Угол естественного откоса, градус	38,0 \pm 1,4	32 \pm 1,1	42 \pm 0,6
Насыпная плотность до уплотнения, г/мл	0,510 \pm 0,012	0,517 \pm 0,011	0,506 \pm 0,015
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл	0,606 \pm 0,013	0,584 \pm 0,010	0,609 \pm 0,028
Индекс Хауснера	1,19 \pm 0,02	1,13 \pm 0,01	1,20 \pm 0,03
Индекс Кара	15,9 \pm 1,2	11,4 \pm 0,7	16,7 \pm 1,9

По результатам определения сыпучести и угла естественного откоса для состава 2 характерна «хорошая» степень сыпучести, значения соответствуют референтным значениям. Сыпучесть состава 1 соответствует значению «удовлетворительная», а значение угла естественного откоса соответствует значению «приемлемая». Сыпучесть состава 3 также соответствует значению «удовлетворительная», однако значение угла естественного откоса находится в диапазоне значения «удовлетворительная», что может свидетельствовать о возможности застревания массы.

Как уже отмечалось, индексы Хауснера и Кара позволяют оценить, как сыпучесть, так и возможность уплотнения материала, что немаловажно при заполнении твёрдых желатиновых капсул и также являются комплексным показателем при анализе степени сыпучести. По результатам расчётов, представленным в таблице 5.3 можно отметить «хорошую» сжимаемость, характерную для состава 2, и «среднюю» для составов 1 и 3. Согласно ГФ XV издания ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков», индексы Кара и Хауснера, установленные для состава 2 характерны для материалов, имеющих «хорошую» сыпучесть, а для составов 1 и 3 – «приемлемую».

Следует отметить важность таких характеристик содержимого спансул, как влажность и гигроскопичность. Учитывая высокую чувствительность стенки желатиновой капсулы как к повышению, так и снижению собственной влажности, дальнейшие исследования были посвящены определению влажности предложенных модельных составов. Повышенное содержание влаги в массе содержимого спансул оказывает негативное влияние на его степень сыпучести, а также оказывает влияние на стабильность твёрдой желатиновой капсулы. Определение влажности проводили согласно ОФС «Потеря в массе при высушивании» ГФ XIV издания (соответствует ГФ XV), методика представлена в главе 2. Средняя потеря в массе при высушивании (влажность) исследуемых составов составила: состав 1 – $8,57 \pm 1,43\%$, состав 2 – $5,77 \pm 0,79\%$, состав 3 – $9,77 \pm 1,59\%$. Учитывая, что большая часть в составе содержимого спансул приходится на микрокапсулы, дополнительно определена потеря массы при высушивании для выбранной фракции микрокапсул. Среднее значение составило $4,18 \pm 0,73\%$.

Полученные результаты свидетельствуют о наименьшем содержании влаги в составе 2, при этом можно отметить, что содержание влаги обусловлено не дополнительным введением гликлазида и вспомогательных веществ, а влаги, содержащейся в микрокапсулах, что может быть обусловлено наличием растительных экстрактов в их составе.

Как было отмечено выше, немаловажным фактором является гигроскопичность содержимого спансул, учитывая, что содержание влаги в оболочке твёрдых желатиновых капсул может достигать 16%. Повышенная гигроскопичность содержимого может приводить к нарушению стабильности лекарственной формы, а именно к отсыреванию массы и разрушению действующих веществ, изменению механической прочности оболочки спансулы. Следовательно, исследование гигроскопичности предложенных составов в сравнении с микрокапсулами, учитывая гигроскопичность желатина как материала, является важным этапом при изучении модельных составов. Анализ проводили согласно ОФС.1.1.0042 «Определение гигроскопичности» ГФ XV

издания, методика описана в главе 2. Гигроскопичность измеряли через 1, 6, 12 и 24 часов. Результаты определения степени гигроскопичности (увеличение массы испытуемого образца в процентах) представлены на рисунке 5.1.

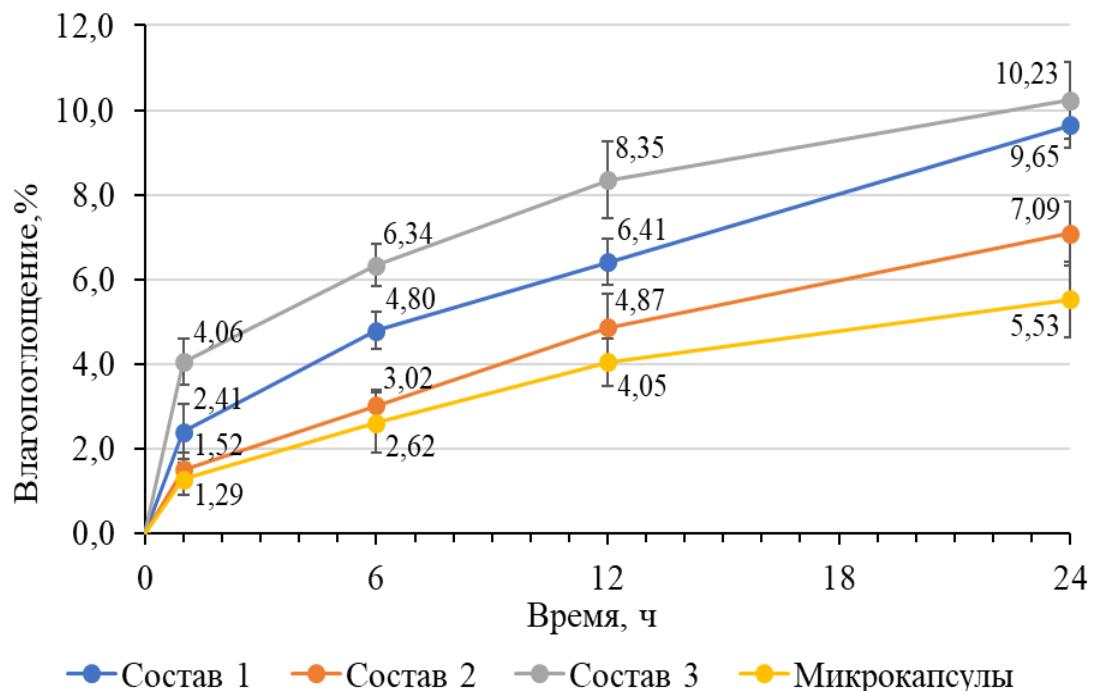


Рисунок 5.1 – Результаты определения гигроскопичности исследуемых составов

Согласно результатам, представленным на рисунке 5.1, поглощение влаги микрокапсулами составило $5,53 \pm 0,9\%$. Данное значение можно принять в качестве базового уровня, учитывая одинаковое содержание микрокапсул в каждом составе. Установленный показатель гигроскопичности позволяет оценить влияние дополнительных компонентов спансулы на гигроскопичность. Полученные результаты свидетельствуют о наименьшем поглощении влаги составом 1, при этом следует отметить, что динамика поглощения влаги в течение двенадцати часов исследования сопоставима с влагопоглощением микрокапсул. Состав 1 и 3 характеризуются большим поглощением влаги. Так, введение крахмала в качестве наполнителя немодифицированной части спансулы

увеличивает гигроскопичность массы в 1,85 раза, микрокристаллическая целлюлоза повышает влагопоглощение массы в 1,75 раза относительно базового уровня.

Выбор размера твёрдой желатиновой капсулы осуществляли на основании показателя насыпной плотности до и после уплотнения, расчёт объёма заполнения проводили по формуле:

$$V_{\text{зап.}} = \frac{m}{p \times V_{\text{капсулы}}} \times 100\%, \quad (7)$$

где, $V_{\text{зап.}}$ – объём, занимаемый массой для наполнения капсулы, %;

m – масса для наполнения капсулы, г;

p – насыпная плотность г/мл;

$V_{\text{капсулы}}$ – объём пустой капсулы, мл.

Для получения спансулы, учитывая насыпную плотность составов, были выбраны непрозрачные твёрдые желатиновые капсулы №0 со средним номинальным объёмом 0,68 мл, цвет крышечки и корпуса капсулы белые. Состав 2 обеспечивает объём заполнения капсулы без уплотнения массы 95,3% и с уплотнением 84,4%.

Таким образом, проведенные исследования технологических и физико-химических свойств предложенных составов спансул позволяют выбрать в качестве оптимального состав 2, содержащий помимо микрокапсул смесь гликлазида с пласдоном К25 в качестве наполнителя, аэросилом и магния стеаратом в качестве скользящих компонентов.

5.3.2 Разработка технологии получения спансул

Основываясь на результатах экспериментальных исследований, предложен оптимальный состав спансулы при следующем содержании компонентов в г/спансула и масс. %:

Гликлазид	0,03	8,95
Пласдон К-25	0,03	8,95

Аэросил	0,001	0,3
Магния стеарат	0,001	0,3
Микрокапсулы:		
Гликлазид	0,03	8,95
Сухой экстракт травы галеги лекарственной	0,01	3,0
Сухой экстракт корня солодки голой	0,06	17,9
Сухой экстракт листьев мяты перечной	0,03	8,95
Желатин	0,13	38,8
Глицерин	0,013	3,9
	0,335	100,0

Предложенный состав спансулы состоит из сыпучей порошковой массы гликлазида со вспомогательными веществами и желатиновых микрокапсул, содержащих смесь гликлазида и фитосубстанции экстрактов солодки голой, галеги лекарственной и мяты перечной. Учитывая биофармацевтические исследования, представленные в главе 4, желатиновые микрокапсулы характеризуются более медленной скоростью высвобождения гликлазида. Согласно теоретическим представлениям о свойствах желатина, как материала оболочки микрокапсул, выбранная модель обеспечивает более медленное высвобождение инкапсулированных лекарственных средств и как следствие, элонгацию эффекта.

Технологическая схема получения спансулы представлена на рисунке 5.2 и классически включает стадии подготовки производства, основной технологический процесс, который можно разделить на два больших блока: микрокапсулирования и наполнения капсул, а также операций, связанных с упаковкой и маркировкой продукции.

Технологическая схема производства спансулы имеет интегрированный характер и включает процесс получения микрокапсул, подробно изложенный в главе 4, раздел 4.1.



Рисунок 5.2 – Интегрированная технологическая схема получения спансул

Последующие стадии технологического процесса связаны с получением массы для капсулирования, наполнением пустых твёрдых желатиновых капсул – получением спансулы и операций, связанных с упаковкой и маркировкой готовой продукции.

С целью получения массы для заполнения с заданными технологическими характеристиками, микрокапсулы, содержащие гликлазид и комбинацию растительных экстрактов, просеивают через вертикальное сито, размер отверстий сеток сит обусловлен требуемым размером микрокапсул, верхнее сито должно обеспечивать отделение микрокапсул размером более 0,5 мм (отсев), нижнее сито должно обеспечивать прохождение через отверстия микрокапсул имеющих размер менее 0,2 мм (отсев). Микрокапсулы, имеющие размер 0,2-0,5 мм, собираются с нижнего сита, поступают в сборник и передаются для дальнейшего получения массы для заполнения спансулы.

Дальнейшие операции технологического процесса связаны с дозированием по массе всех компонентов спансулы в соответствии с рабочей прописью (микрокапсулы, гликлазид, пласдон K25, аэросил, магния стеарат). Для получения массы для капсулирования в биновый смеситель V-образной формы добавляют гликлазид и пласдон K25, смешивают до однородной массы. Затем к полученной массе добавляют микрокапсулы и продолжают перемешивание. После получения однородной массы последовательно добавляют магния стеарат и аэросил и продолжают перемешивание до однородной массы.

Следующей стадией технологического процесса является наполнение твёрдых желатиновых капсул смесью лекарственных и вспомогательных веществ, полученной на предыдущей стадии технологического процесса. Для этого в капсулонаполняющую машину загружают пустые твёрдые желатиновые капсулы, после вскрытия и отбраковки пустых капсул в бункер дозирующего устройства загружают смесь для заполнения, настраивают дозирующее устройство в соответствие с рабочей прописью и осуществляют заполнение корпуса капсулы смесью. После закрытия капсул аппарат осуществляет автоматическую отбраковку некачественной продукции. После обеспыливания готовые спансулы

собирают в сборник и передают на участок упаковки. Отбракованную продукцию передают на сжигание. Стадия ТП 6 является ключевой стадией технологического процесса получения спансул, поэтому в процессе производства необходимо периодически осуществлять контроль готовых спансул по показателю «Однородность массы».

Готовые спансулы загружают в бункер счёто-фасовочной машины, в которой осуществляется дозирование спансул в одностороннюю контурную ячейковую упаковку с последующей упаковкой путём термосваривания. Далее осуществляется отбраковка незаполненных первичных упаковок, и нанесение маркировки на первичную упаковку. Заполненные и промаркованные блистеры упаковывают в картонную коробку. Готовую продукцию отправляют на склад.

На основании результатов проведенных исследований и разработанной технологической схемы можно определить ключевые стадии и критические параметры технологического процесса – таблица 5.4. Критические стадии получения микрокапсул представлены в главе 4 раздел 4.1 – таблица 4.5.

Таблица 5.4 – Критические стадии технологического процесса получения спансулы

Наименование критической стадии	Контролируемый параметр	Обоснование
ТП 5 Получение массы для капсулирования	Скорость вращения барабана смесителя, время перемешивания	Нарушение условий смещивания приведёт к потере однородности массы и дозирования
ТП 6.1 Заполнение твёрдых желатиновых капсул	Однородность массы спансул, герметичность закрытия капсул	Нарушение условий приведёт к потере однородности массы и дозирования

5.4 Стандартизация спансулы

Стандартизацию спансул проводили согласно требованиям ОФС.1.4.1.0005.18 «Капсулы» ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.1.0005 «Капсулы» ГФ XV), по показателям «Описание», «Распадаемость», «Однородность массы»,

«Однородность дозирования», «Микробиологическая чистота». Для проведения стандартизации спансул были получены опытные серии спансул, смешивание компонентов, согласно технологической прописи, проводили на V-образном лабораторном смесителе общей емкостью 0,5 л (VENUS FTLMV-0,5) с последующим заполнением твёрдых желатиновых капсул с помощью ручной капсулонаполняющей машины CAP 20.

Определение показателя «Распадаемость» проводили согласно ОФС.1.4.2.0013.15 ГФ XIV метод 1 (соответствует ОФС.1.4.2.0013 «Распадаемость твёрдых лекарственных форм» ГФ XV). Результаты испытания 6 серий образцов спансул представлены в таблице 5.5, как среднее значение 6 определений в каждой серии.

Таблица 5.5 – Результаты определения показателя «Распадаемость» спансул

Серия	Распадаемость, мин	Норма по ГФ XIV (ГФXV)
S1	15,7 ± 2,8	Не более 30 минут
S2	14,2 ± 3,2	
S3	13,7 ± 3,4	
S4	14,7 ± 3,1	
S5	14,8 ± 3,5	
S6	14,3 ± 2,8	

Полученные результаты свидетельствует о соответствии спансул требованиям ГФ по показателю «Распадаемость», время распада образцов спансул ни в одной из исследуемой серии не превышало 30 минут.

Оценку качества спансул по показателю «Однородность массы» проводили согласно ОФС.1.4.2.0009.15 ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.2.0009. «Однородность массы дозированных лекарственных форм» ГФ XV). Результаты испытания 6 серий образцов спансул представлены в таблице 5.6. Согласно требованиям государственной фармакопеи, допустимое отклонение индивидуальной массы содержимого спансулы от среднего значения не должно превышать 7,5%. Результаты, представленные в таблице 5.6, позволяют сделать вывод о соответствии исследуемых образцов требованиям ГФ.

Таблица 5.6 – Результаты определения показателя «Однородность массы» спансул

Образец	Серия											
	S1		S2		S3		S4		S5		S6	
	m, г	s, %										
1	0,324	3,2	0,339	-1,9	0,330	0,4	0,332	-0,6	0,332	-0,2	0,332	-0,4
2	0,323	3,5	0,336	-1,0	0,323	2,5	0,324	1,8	0,321	3,2	0,339	-2,5
3	0,344	-2,7	0,342	-2,8	0,334	-0,8	0,329	0,3	0,335	-1,1	0,323	2,3
4	0,331	1,1	0,334	-0,4	0,338	-2,1	0,339	-2,7	0,323	2,6	0,324	2,0
5	0,335	0,0	0,339	-1,9	0,337	-1,8	0,326	1,2	0,333	-0,5	0,338	-2,2
6	0,339	-1,2	0,324	2,6	0,322	2,8	0,323	2,2	0,328	1,1	0,328	0,8
7	0,343	-2,4	0,341	-2,5	0,340	-2,7	0,339	-2,7	0,340	-2,6	0,333	-0,7
8	0,329	1,7	0,332	0,2	0,332	-0,2	0,317	4,0	0,328	1,1	0,336	-1,6
9	0,331	1,1	0,327	1,7	0,330	0,4	0,325	1,5	0,334	-0,8	0,324	2,0
10	0,328	2,0	0,341	-2,5	0,337	-1,8	0,336	-1,8	0,332	-0,2	0,322	2,6
11	0,322	3,8	0,322	3,2	0,339	-2,4	0,336	-1,8	0,331	0,2	0,341	-3,1
12	0,332	0,9	0,330	0,8	0,326	1,6	0,324	1,8	0,327	1,4	0,335	-1,3
13	0,340	-1,5	0,337	-1,3	0,328	1,0	0,338	-2,4	0,322	2,9	0,320	3,2
14	0,348	-3,9	0,335	-0,7	0,341	-3,0	0,337	-2,1	0,336	-1,4	0,336	-1,6
15	0,338	-0,9	0,327	1,7	0,323	2,5	0,333	-0,9	0,338	-2,0	0,334	-1,0
16	0,335	0,0	0,330	0,8	0,329	0,7	0,328	0,6	0,328	1,1	0,320	3,2
17	0,331	1,1	0,328	1,4	0,331	0,1	0,331	-0,3	0,325	2,0	0,339	-2,5
18	0,346	-3,3	0,328	1,4	0,330	0,4	0,326	1,2	0,340	-2,6	0,318	3,8
19	0,339	-1,2	0,337	-1,3	0,327	1,3	0,328	0,6	0,339	-2,3	0,332	-0,4
20	0,339	-1,2	0,325	2,3	0,327	1,3	0,331	-0,3	0,338	-2,0	0,338	-2,2
m _{cp}	0,335		0,333		0,331		0,330		0,332		0,331	

m – масса содержимого каждой спансулы, г; m_{cp} – средняя масса содержимого спансулы, г; s – отклонение индивидуальной массы от средней массы, %.

Стоит отметить, что данный показатель выступает в качестве критерия оценки воспроизводимости операции дозирования в рамках производства лекарственной формы.

Согласно ОФС.1.4.2.0008.18 «Однородность дозирования» ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.2.0008 «Однородность дозирования» ГФ XV), испытание на однородность дозирования может быть проведено двумя способами: непосредственным определением содержания действующего вещества в каждой единице спансулы, либо точным определением массы содержимого каждой спансулы, соотнесенного с результатами количественного определения действующего вещества. Первый метод является более приёмлемым, поскольку позволяет провести оценку однородности дозирования лекарственного препарата с позиций количественного содержания действующего вещества в каждой дозе. Второй метод является более экономичным с точки зрения затрат лекарственной формы, реактивов и времени проведения анализа. Однако, учитывая специфику разработанного состава спансулы, заключающуюся в введении гликлазида частично в микрокапсулированной форме, частично в форме порошка, первый метод оценки однородности дозирования позволит получить более достоверные результаты.

Кроме того, содержание гликлазида в составе спансулы менее 25%, согласно ГФ, определяет проведение испытания спансулы по показателю «Однородность дозирования» согласно методу 1. Результаты анализа 6 серий спансул и расчёты критерия приёмлемости представлены в таблице 5.7.

Таблица 5.7 – Результаты анализа спансул по показателю «Однородность дозирования»

Образец	Серия					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
	X, %	X, %	X, %	X, %	X, %	X, %
1	105,0	110,0	100,0	96,7	110,0	106,7
2	93,3	98,3	95,0	93,3	103,3	101,7
3	95,0	96,7	95,0	91,7	105,0	93,3
4	96,7	103,3	103,3	98,3	101,7	95,0

продолжение таблицы 5.7

5	100,0	105,0	105,0	105,0	90,0	93,3
6	103,3	106,7	98,3	101,7	95,0	98,3
7	100,0	100,0	91,7	105,0	98,3	100,0
8	101,7	100,0	91,7	91,7	100,0	96,7
9	90,0	110,0	101,7	103,3	100,0	105,0
10	91,7	95,0	100,0	100,0	103,3	105,0
$\bar{X}, \%$	97,7	102,5	98,2	98,7	100,7	99,5
S	5,10	5,34	4,68	5,20	5,51	4,97
RSD	5,23	5,21	4,77	5,27	5,47	5,00
AV	12,2	12,8	11,2	12,5	13,2	11,9
L1	15,0					

X – количественное содержание гликлазида в спансуле, %; \bar{X} – среднее значение количественного содержания гликлазида в спансулах, %; S – стандартное отклонение от среднего значения; RSD – относительное стандартное отклонение; AV – приёмлемое значение, %; L1 – максимально допустимое значение AV, %

Согласно данным, представленным в таблице 5.7, рассчитанное значение критерия приемлемости (AV) меньше максимально допустимого значения (L1), что, согласно ГФ, свидетельствует о соответствии спансул требованиям по показателю «Однородность дозирования».

Удовлетворительные результаты анализа шести серий спансул по показателям «Распадаемость», «Однородность массы», «Однородность дозирования» дополнительно подтверждают выбор разработанного состава спансулы как наиболее оптимальный, а полученные результаты можно использовать для утверждения норм качества разработанных спансул по указанным показателям.

Испытание растворимости твёрдых дозированных лекарственных форм применяют при контроле качества с целью подтверждения постоянства состава, стабильности технологического процесса, обеспечения однородности внутри серий и разработки единых стандартов качества. Учитывая прогнозируемый модифицированный характер высвобождения действующих веществ спансулы за счёт содержания в составе микрокапсул, был исследован профиль высвобождения гликлазида из спансулы. Гликлазид выбран в качестве основного компонента для оценки высвобождения, поскольку обладает наименьшей растворимостью в водной среде из всех действующих веществ, входящих в состав спансулы.

Методика проведения исследования базировалась на методе проведения теста растворения для таблеток гликлазида согласно ФС.3.1.0019.18 ГФ. Результаты исследования кинетики высвобождения гликлазида из спансулы представлены на рисунке 5.3. Результаты представлены как среднее значение исследования шести образцов спансул, в качестве модельной была выбрана серия 3 (S3), так как результаты определения однородности дозирования характеризуют данную серию спансул как более однородную и обладающую меньшим временем распада оболочки твердой желатиновой капсулы ($13,7 \pm 3,4$ минуты). На основании результатов, представленных на рисунке 5.3, можно сделать заключение, что высвобождение половины заявленной дозы гликлазида (что соответствует содержанию свободной фракции гликлазида) наблюдается через 60 минут – 52,1%. Статистический анализ полученных результатов показал значимое повышение концентрации гликлазида в среде растворения в течение первых 8 часов ($p < 0.05$ t-критерий Вилкоксона) с дальнейшим выходом на плато.

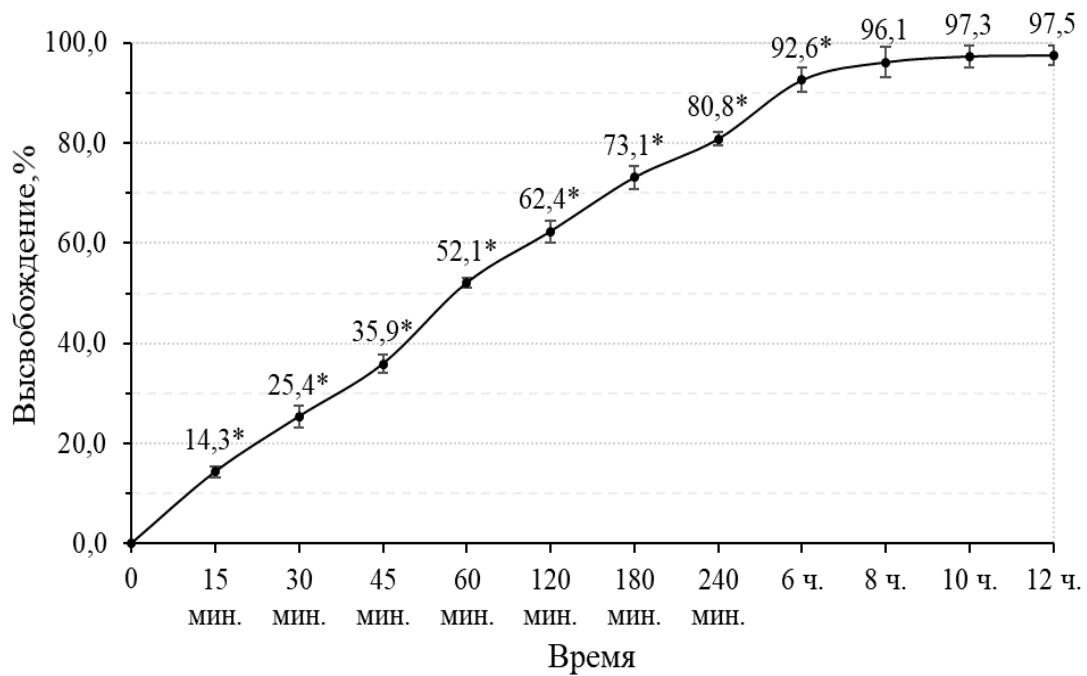


Рисунок 5.3 – Профиль высвобождения гликлазида из спансулы (*-значения имеющие статистически значимые изменения по отношению к предыдущему, $p < 0.05$)

Полученный профиль высвобождения свидетельствует о пролонгированном высвобождении гликлазида. Согласно требованиям ОФС.1.4.2.0014 «Растворение для твёрдых дозированных лекарственных форм», для лекарственных препаратов с обычным высвобождением количество действующего вещества, высвободившегося в среду растворения из каждой единицы лекарственной формы, в течение 45 мин должно составлять не менее 80 % от заявленного содержания, что не согласуется с полученными результатами, и позволяет сделать вывод о пролонгированном высвобождении гликлазида из спансулы.

При проведении испытания твёрдых лекарственных форм с пролонгированным высвобождением по показателю «Растворение» необходимо определить временные точки для подтверждения пролонгированности. Так для таблеток гликлазида с модифицированным высвобождением установлены следующие нормы: через 2 ч в раствор должно перейти не менее 15% и не более 35% действующего вещества, через 4 ч – не менее 30% и не более 55%, через 12 ч – не менее 75%. Анализ результатов, полученных с целью обоснования норм растворения гликлазида в форме спансулы, показал, что время 60 минут и 4 часа являются наиболее приемлемыми. Данный факт подтверждается рассчитанными значениями относительного стандартного отклонения RSD, которое составило для точки 60 минут – 1,81 и 4 часа – 1,73, что соответствует требованию критерия приемлемости (не более 2%), и отклонение отдельных результатов теста не превышает 10% [181-183]. Таким образом, результаты представленных исследований спансул свидетельствуют о пролонгированном характере высвобождения гликлазида, и позволяют установить контрольные точки для проведения теста «Растворение».

Определение микробиологической чистоты проводили по ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота». Согласно требованиям ГФ, разработанный состав спансулы должен соответствовать категории 3А микробиологической чистоты. Оценку микробиологической чистоты проводили в рамках исследований по определению сроков годности.

5.5 Фармакологические исследования разработанного состава спансул

Определение противодиабетического действия разработанной композиции спансулы проводили на крысах самцах *Wistar* с аллоксан-индуцированной моделью сахарного диабета второго типа, дизайн исследования представлен на рисунке 5.4. Методика постановки аллоксанового сахарного диабета второго типа представлена в главе 2. Эффективность спансулы изучали после однократного введения, накопительный эффект оценивали на седьмые и четырнадцатые сутки применения путём проведения теста на резистентность к пероральной глюкозе. Методика проведения теста на резистентность представлена в главе 2.

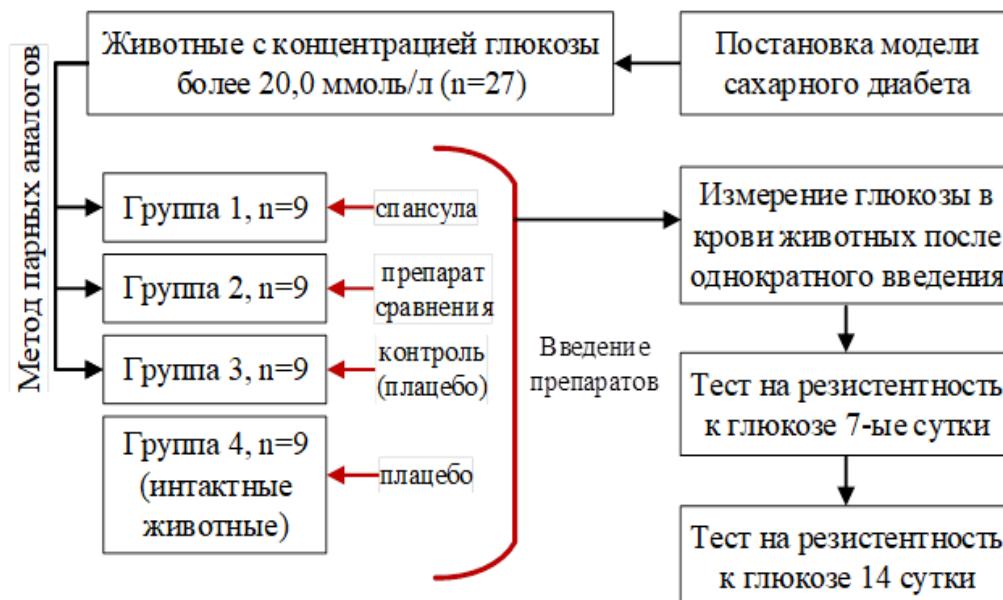


Рисунок 5.4 – Дизайн сравнительного исследования специфической активности спансулы

Методом парных аналогов было сформировано 3 группы животных ($n=9$) с сахарным диабетом, с концентрацией глюкозы в крови более 20 ммоль/л, также была сформирована 4 группа интактных животных ($n=9$) без сахарного диабета с целью мониторинга физиологического уровня глюкозы. В качестве препарата сравнения использовали таблетки гликлазида с модифицированным высвобождением. Группе 1 вводили содержимое спансулы, расчёт дозы

проводили по гликлазиду 60 мг/кг, группе 2 вводили препарат сравнения в дозе 60 мг/кг, расчёт также проводили по гликлазиду, группе 3 вводили состав спансулы, полученный без добавления действующих веществ, группе 4 вводили эквивалентное по объёму исследуемым препаратам количество воды очищенной в качестве плацебо. Расчёт доз проводили с учётом межвидового коэффициента пересчёта.

Результаты исследования специфической активности разработанного состава спансулы после однократного применения представлены на рисунке 5.5.

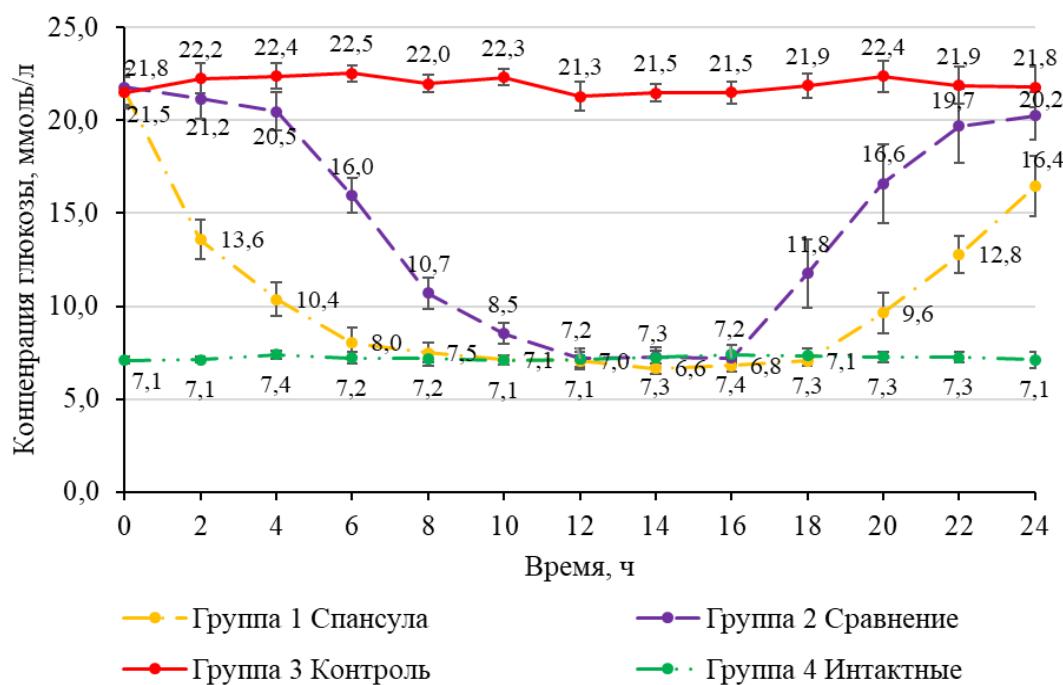


Рисунок 5.5 – Динамика изменения концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных после однократного введения препаратов

До введения препаратов средние значения концентрации глюкозы в крови животных с сахарным диабетом в сформированных группах находились на уровне: группа 1 – $21,5 \pm 0,8$ ммоль/л; группа 2 – $21,8 \pm 1,0$ ммоль/л; группа 3 – $21,5 \pm 0,9$ ммоль/л, и значимо не отличались. Концентрация глюкозы в крови интактных животных составляла $7,1 \pm 0,2$ ммоль/л. На фоне введения разработанного состава спансулы статистически значимое уменьшение (на 36,7%)

концентрации глюкозы в крови животных (группа 1) отмечено уже через 2 часа, и данная тенденция сохранялась в течение первых 6 часов исследования ($p<0.05$). Через 8 часов концентрация глюкозы в крови животных первой и четвертой группы была сопоставима, что свидетельствует о достижении физиологически приемлемого уровня гликемии, данная тенденция сохранялась в течение следующих 10 часов. Следует отметить, что концентрация глюкозы в крови животных группы 1 через 24 часа после введения состава спансулы меньше на 24,8% и 18,8%, чем в группах 2 и 3 соответственно.

Значимое снижение концентрации глюкозы в крови животных, получающих препарат сравнения (группа 2), наблюдалось через 6 часов (на 21,9%) после однократного введения ($p<0.05$). Через 12 часов уровень гликемии в крови животных группы сравнения был сопоставим с группой 4, данный эффект сохранялся в течение следующих 4 часов.

Уровень гликемии в крови животных контрольной группы (группа 3) находился на высоком уровне в течение всего времени исследования.

При проведении сравнительного анализа полученных результатов определения противодиабетической активности разработанного препарата и препарата сравнения следует отметить ряд аспектов. Сахароснижающий эффект после однократного введения предложенного состава спансулы развивается раньше и более стремительно, в течение первых 8 часов эксперимента среднее значение концентрации глюкозы в крови животных группы 1 меньше в среднем на $41,2 \pm 9,9\%$ относительно группы сравнения. Кроме того, стоит отметить, что оригинальный состав спансулы поддерживает физиологический уровень глюкозы в крови животных группы 1 в 2 раза дольше, чем препарат сравнения. Также нельзя не отметить менее интенсивную динамику роста концентрации глюкозы в крови животных. В среднем, концентрация глюкозы в крови животных группы 1 в течение последних 6 часов эксперимента на $34,0 \pm 10,5\%$ была, чем в крови животных группы 2.

Дальнейшие исследования были посвящены изучению накопительного действия разработанного состава спансулы в teste на резистентность к глюкозе на седьмые и четырнадцатые сутки.

На рисунке 5.6 представлены результаты проведения теста на резистентность к пероральному введению глюкозы на седьмые сутки применения разработанного препарата.

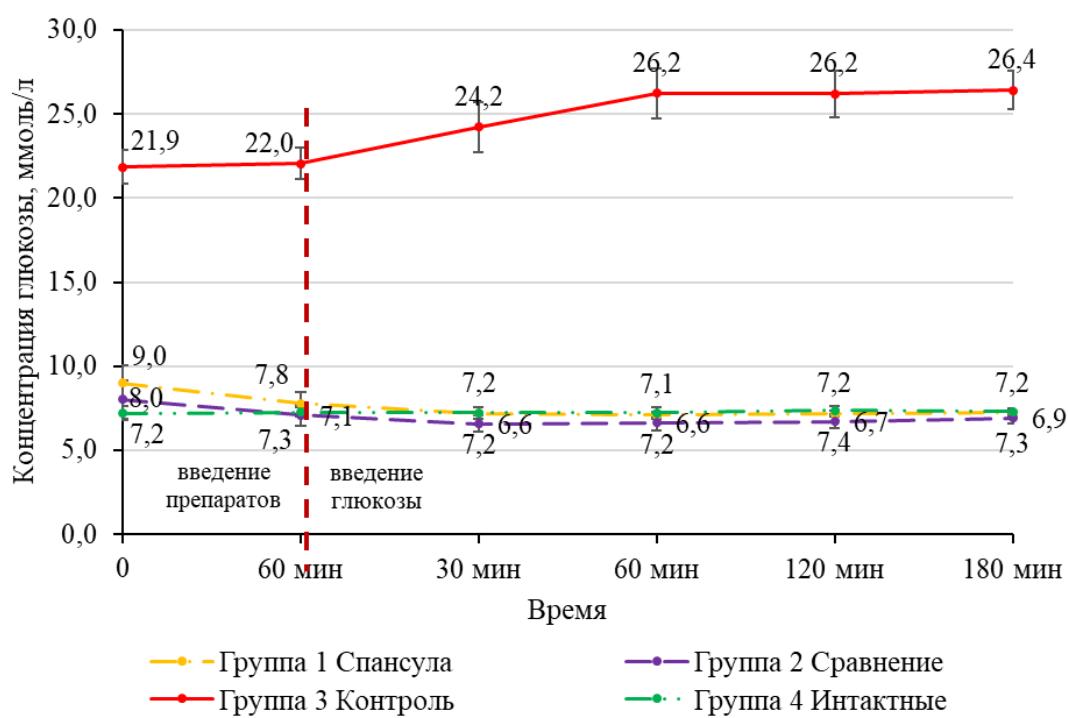


Рисунок 5.6 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (7-ые сутки)

Концентрация глюкозы в крови животных на фоне ежедневного введения разработанных препаратов в течение семи дней снизилась ($p<0.05$) от первоначального уровня в группе 1 на 58,1%, в группе 2 на 63,3%, при этом уровни гликемии сопоставимы и не имеют статистически значимых различий ($p>0.05$).

Через час после введения исследуемых препаратов статистически значимых изменений концентрации глюкозы в крови животных не наблюдалось.

После перорального введения 5% раствора глюкозы в группах 1 и 2 повышения концентрации глюкозы в крови животных не наблюдалось. Уровни гликемии сопоставимы с физиологической нормой на протяжении всего времени эксперимента. В контрольной группе отмечается рост концентрации глюкозы в крови животных после перорального введения глюкозы.

На рисунке 5.7 представлены результаты проведения теста на резистентность к пероральному введению глюкозы на четырнадцатые сутки применения разработанного препарата. Концентрация глюкозы в крови животных на четырнадцатые сутки составила: в группе 1 – $7,3 \pm 0,6$ ммоль/л, в группе 2 – $7,0 \pm 0,7$ ммоль/л, в группе 3 – $22,9 \pm 1,3$ ммоль/л.

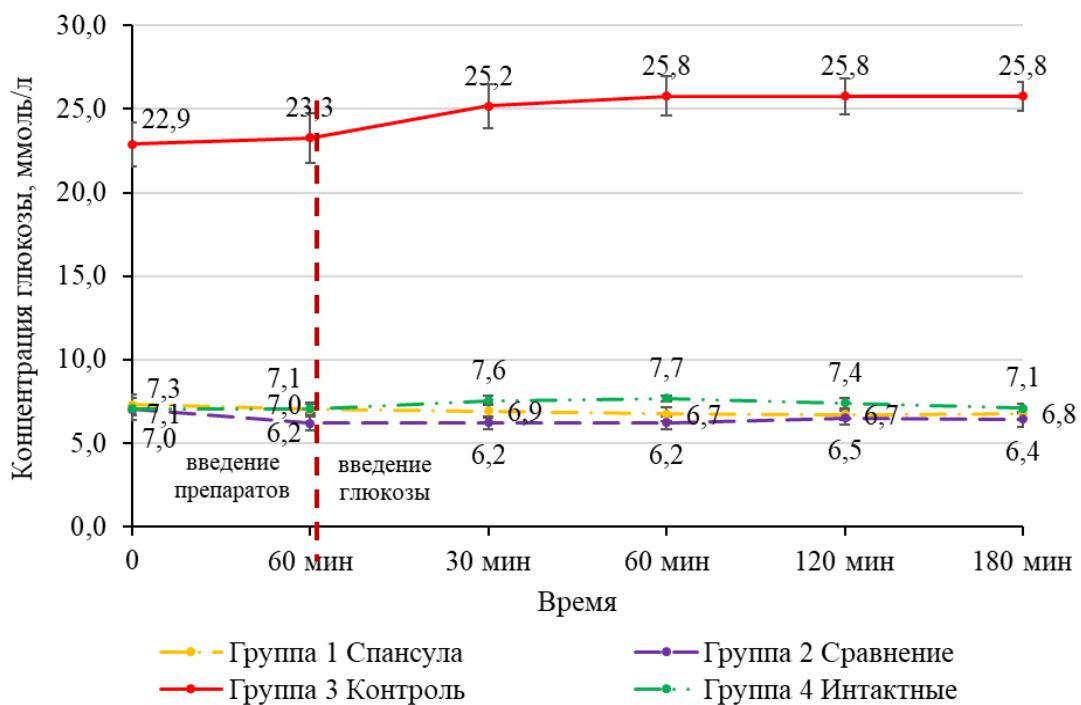


Рисунок 5.7 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (14-ые сутки)

После перорального введения 5% раствора глюкозы в группах 1 и 2 повышения концентрации глюкозы в крови животных также не наблюдалось. Уровни гликемии сопоставимы с физиологической нормой на протяжении всего

времени эксперимента. В контрольной группе также отмечается рост концентрации глюкозы в крови животных после перорального введения глюкозы.

Полученные результаты сравнительного исследования специфической сахароснижающей активности разработанного состава спансулы свидетельствует о более раннем наступлении эффекта по сравнению с препаратом сравнения и большей продолжительностью действия. При этом следует отметить сопоставимую эффективность поддержания уровня гликемии в крови животных на фоне перорального введения глюкозы.

5.6 Изучение стабильности и сроков годности спансулы

Изучение стабильности и определение сроков годности спансулы проводили в трех сериях опытных образцов. На основании ОФС.1.4.1.0005 «Капсулы», с учётом ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» (соответствует ОФС. 1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств») были сформированы ключевые показатели качества.

Анализ образцов опытных серий S7-S9 проводили по таким показателям, как:

- описание содержимого капсулы,
- однородность массы (средняя масса спансулы),
- однородность дозирования,
- распадаемость,
- микробиологическая чистота.

Исследования проводили согласно методикам указанным в общих фармакопейных статьях ГФ XV.

Также проводили анализ подлинности состава и количественный анализ по гликлазиду и глицирризиновой кислоте. Результаты исследования предложенного

состава, представленные в разделе 5.4 позволили утвердить значения показателей норм качества комбинированной спансулы.

Результаты проведенного долгосрочного испытания стабильности и исследования сроков годности трех серий спансул, представлены в таблицах 5.7-5.9. Исследуемые образцы спансул соответствовали нормам качества во всех временных точках.

Рекомендуемый срок годности составляет 24 +6 месяцев.

Таблица 5.7 – Результаты определения сроков годности спансул – серия 7 (S7)

Показатели качества	Норма	Срок хранения (месяцев)				
		6	12	18	24	30
Описание содержимого спансулы	Капсулы размера 0, корпус и крышечка белого цвета, поверхность гладкая, без воздушных пузырьков. Содержимое капсул представляет собой смесь микрокапсул коричневого цвета и белого порошка.	+	+	+	+	+
Средняя массы спансулы	Соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0009. ГФ РФ XV изд. $\pm 7,5\%$	+	+	+	+	+
Распадаемость	не более 30 минут	+	+	+	+	+
Подлинность гликлазид	объём удерживания пика на хроматограмме испытуемого раствора должен соответствовать объёму удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора гликлазида	+	+	+	+	+
Подлинность глицирризиновая кислота	1. УФ - спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при 258 нм+3 нм	+	+	+	+	+
	2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты разведенной 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора амиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается	+	+	+	+	+
Количественное определение гликлазид	$0,06 \pm 10\%$ (0,054-0,066 г/спансула)	+	+	+	+	+
Количественное определение глицирризиновая кислота	$0,014 \pm 10\%$ (0,0126-0,0154 г/спансула)	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0008. ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Микробиологическая чистота	Категория 3А	+	+	+	+	+

«+» - значение исследуемого показателя качества соответствует установленной норме

Таблица 5.8 – Результаты определения сроков годности спансул – серия 8 (S8)

Показатели качества	Норма	Срок хранения (месяцев)				
		6	12	18	24	30
Описание содержимого спансулы	Капсулы размера 0, корпус и крышечка белого цвета, поверхность гладкая, без воздушных пузырьков. Содержимое капсул представляет собой смесь микрокапсул коричневого цвета и белого порошка.	+	+	+	+	+
Средняя массы спансулы	Соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0009. ГФ РФ XV изд. $\pm 7,5\%$	+	+	+	+	+
Распадаемость	не более 30 минут	+	+	+	+	+
Подлинность гликлазид	объём удерживания пика на хроматограмме испытуемого раствора должен соответствовать объёму удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора гликлазида	+	+	+	+	+
Подлинность глицирризиновая кислота	1. УФ - спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при 258 нм+3 нм	+	+	+	+	+
	2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты разведенной 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора аммиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается	+	+	+	+	+
Количественное определение гликлазид	$0,06 \pm 10\%$ (0,054-0,066 г/спансула)	+	+	+	+	+
Количественное определение глицирризиновая кислота	$0,014 \pm 10\%$ (0,0126-0,0154 г/спансула)	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0008. ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Микробиологическая чистота	Категория 3А	+	+	+	+	+

«+» - значение исследуемого показателя качества соответствует установленной норме

Таблица 5.9 – Результаты определения сроков годности спансул – серия 9 (S9)

Показатели качества	Норма	Срок хранения (месяцев)				
		6	12	18	24	30
Описание содержимого спансулы	Капсулы размера 0, корпус и крышечка белого цвета, поверхность гладкая, без воздушных пузырьков. Содержимое капсул представляет собой смесь микрокапсул коричневого цвета и белого порошка.	+	+	+	+	+
Средняя массы спансулы	Соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0009. ГФ РФ XV изд., норма $\pm 7,5\%$	+	+	+	+	+
Распадаемость	Не более 30 минут	+	+	+	+	+
Подлинность гликлазид	объём удерживания пика на хроматограмме испытуемого раствора должен соответствовать объёму удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора гликлазида	+	+	+	+	+
Подлинность глицирризиновая кислота	1. УФ - спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при 258 нм+3 нм	+	+	+	+	+
	2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты разведенной 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора аммиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается	+	+	+	+	+
Количественное определение гликлазид	$0,06 \pm 10\%$ (0,054-0,066 г/спансула)	+	+	+	+	+
Количественное определение глицирризиновая кислота	$0,014 \pm 10\%$ (0,0126-0,0154 г/спансула)	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0008. ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Микробиологическая чистота	Категория 3А	+	+	+	+	+

«+» - значение исследуемого показателя качества соответствует установленной норме

Заключение по главе 5

1. Анализ научной информации, связанной с исследованиями капсул с модифицированным высвобождением, показал возможные варианты разработки состава спансулы. Рассмотрены возможные варианты модификации высвобождения действующих веществ и способы их достижения. Представленные сведения об альтернативных материалах для получения твёрдых капсул, их преимущества, недостатки, результаты исследований, позволили обосновать выбор желатина в качестве материала оболочки твёрдых капсул для получения спансулы.

2. Результаты экспериментальных исследований выбора вспомогательных веществ для разработки спансулы, позволили определить наиболее приемлемый состав. Комплексная оценка исследуемых составов по ключевым технологическим свойствам: степени сыпучести и гигроскопичности массы позволила обосновать выбор вспомогательных веществ для получения спансулы.

3. На основании проведённых технологических исследований состава спансулы предложена интегрированная технологическая схема производства спансул, включающая процесс микрокапсулирования действующих веществ. Определены критические точки производства.

4. Проведена стандартизация полученных образцов спансул по ключевым показателям качества. Результаты исследования подтверждают соответствие разработанного состава требованиям нормативной документации. Установлены показатели качества спансул. Фармакокинетические исследования *in vitro* подтверждают пролонгированное высвобождение гликлазида из спансулы.

5. Проведенные фармакологические исследования свидетельствуют о более раннем наступлении антидиабетического эффекта по сравнению с препаратом сравнения и большей продолжительностью действия. Установлено положительное влияние разработанных составов на формирование резистентности к алиментарной гипергликемии.

6. По результатам оценки долгосрочной стабильности и срока годности разработанного состава спансулы, определены регламентные нормы показателей качества, в том числе и норма содержания действующих веществ и допустимые отклонения от нормы. В рамках утвержденных норм качества срок годности лекарственного препарата составил 24 + 6 месяцев.

ГЛАВА 6 РАЗРАБОТКА ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ТАБЛЕТОК, СОДЕРЖАЩИХ ГЛИКЛАЗИД И ФИТОСУБСТАНЦИЮ

Гидрофильные матричные таблетки являются одними из самых популярных систем контролируемого высвобождения для перорального приёма. Несмотря на то, что матрицы существуют уже более 40 лет, они по-прежнему являются отправной точкой для инноваций в доставке лекарственных средств. Это связано с тем, что они считаются достаточно надёжными с точки зрения доставки, отличаются простотой технологии их получения и низкой стоимостью производства. Более того, матрицы можно непрерывно совершенствовать по мере появления новых материалов для рецептур. Матричные таблетки обычно состоят из активных компонентов и гидрофильных набухающих полимеров. Когда система подвергается воздействию водной среды, вода будет поглощаться и будет формироваться слой геля. В зависимости от механических свойств слоя геля, высвобождение лекарственного средства контролируется различными механизмами и кинетикой. Набухание полимера, растворение лекарственного средства, диффузия лекарственного средства и эрозия матрицы являются основными явлениями, приводящими к высвобождению лекарственного средства из набухающих матриц. При этом, водорастворимые препараты высвобождаются из матричных систем в основном путём диффузии растворенных молекул через гидратированный слой матрицы, в то время как плохо растворимые препараты в основном высвобождаются посредством механизма эрозии матрицы. Оптимальные матричные таблетки с пролонгированным высвобождением должны иметь минимальный взрывной эффект и максимальное высвобождение лекарственного средства за 12-часовой период времени. Гидрофильные матричные таблетки могут быть изготовлены методами прямого прессования, что позволяет снизить себестоимость производства [184-186].

6.1. Выбор и фармакотехнологическое обоснование состава вспомогательных веществ для получения пролонгированных таблеток гликлазида и фитосубстанции

Как уже было отмечено, таблетки с пролонгированным высвобождением на основе гидрофильных матриц имеют больше преимуществ, чем обычные лекарственные формы. Они широко используются для пероральной контролируемой доставки лекарств. Для приготовления гидрофильной полимерной матричной системы можно использовать многочисленные полимеры с целью модуляции кинетического процесса высвобождения активного компонента [186].

Несмотря на, казалось бы, имеющиеся на фармацевтическом рынке пролонгированные формы гликлазида, исследования в области их совершенствования и технологической оптимизации продолжаются. Учитывая, что гликлазид относится к классу II биофармацевтической классификации, скорость его растворения является контролирующим этапом всасывания препарата. В исследованиях по разработке гидрофильных матричных таблеток гликлазида отмечается перспективность использования производных целлюлозы, альгината натрия в качестве набухающих гидроколлоидов для получения матричных форм [187-193].

Среди производных целлюлозы широкое применение в качестве компонентов матричных таблеток нашли гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ) и гидроксиэтилцеллюлоза (ГЭЦ). Данные модификации целлюлозы представляют собой pH-независимые гидрофильные материалы, они нетоксичны, легко прессуются. После гидратации матрицы ГПМЦ и ГЭЦ образуют гелевый слой достаточной прочности для достижения контролируемого высвобождения активных компонентов.

Альгинат натрия, водорастворимая соль альгиновой кислоты, является природным полисахаридом, извлеченным из морских бурых водорослей. В кислых условиях (например, в желудке) набухание альгинатов почти не

происходит. В нейтральных условиях альгинаты набухают, а высвобождение препарата зависит от процессов набухания и эрозии матрицы.

В последнее время наблюдается широкое использование хитозана в качестве эффективной системы контролируемого высвобождения с улучшенными механическими свойствами. В отличие от большинства матриц контролируемого высвобождения, матрица хитозана не нуждается в дополнительных добавках, т. е. вспомогательных веществах для улучшения текучести порошка, компрессионных и уплотняющих свойств [193-199].

В случае получения таблеток методом прямого прессования особое внимание уделяется выбору наполнителей, связующих и скользящих веществ. В качестве наполнителей широко используют лактозу, микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ), кальция гидрофосфат, маннит, крахмал, натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы (Na КМЦ), метилцеллюлозу (МЦ) и др. Классическими скользящими компонентами выступают хорошо зарекомендовавшие себя на протяжении длительного времени магния и кальция стеарат, кремния диоксид коллоидный (аэросил) [200].

Полиэтиленгликоли с высокой молекулярной массой были предложены [201,202] в качестве альтернативы ГПМЦ в лекарственных формах с контролируемым высвобождением, образуя компактный гелевый слой на поверхности таблетки, который отвечает за контролируемое высвобождение лекарственного средства.

На основании анализа имеющихся литературных данных по разработке таблетированных форм были выбраны основные группы вспомогательных веществ в соответствии с их функциональным назначением:

- каркасобразующие вещества: кальция фосфат двузамещенный, микрокристаллическая целлюлоза, полиэтиленгликоль 6000;
- набухающие гидроколлоиды: гипромеллоза, гидроксиэтилцеллюлоза, натрия альгинат, хитозан;
- связующие пролонгаторы: пласдон К-30, пласдон К-90;

- лубриканты и глиданты: магния стеарат, кальция стеарат, кремния диоксид коллоидный.

При разработке таблетированных препаратов растительных экстрактов в ряде случаев возникают проблемы с плохой распадаемостью лекарственной формы. Это связано со способностью экстрактов склеивать таблеточную массу и препятствовать процессам набухания и дезинтеграции таблетки, следовательно, уменьшать высвобождение действующих веществ. При разработке таблетированных форм, содержащих экстракты, необходимо учитывать данное явление. Кроме того, широкий спектр химических соединений растительных экстрактов может способствовать протеканию неблагоприятных взаимодействий с компонентами формы, что приведёт к снижению эффективности лекарственного средства [203,204]. С целью исключения неблагоприятных взаимодействий активных компонентов фитосубстанции с компонентами лекарственной формы, был предложен модельный состав 5 с добавлением микрокапсулированной фитосубстанции.

Модельные композиции матричных таблеток с пролонгированным высвобождением гликлазида, дополненные фитосубстанцией, обладающей как специфической сахароснижающей активностью, так и прочими биологическими эффектами (глава 3) представлены в таблице 6.1. Учитывая запланированный профиль элонгации, для усиления биологической активности растительной составляющей лекарственной формы, было увеличено содержание компонентов фитосубстанции, а именно: экстракт травы галеги лекарственной с 0,01 до 0,05, экстракт корня солодки голой с 0,06 до 0,07. При этом стоит отметить, что получение микрокапсул фитосубстанции с оболочкой из ПЭГ-6000 для состава 5 осуществляли согласно разработанной технологии, описанной в главе 4, соотношение смеси растительных экстрактов с полимером составляло 1:1. В модельные композиции 1, 2, 3 и 4 фитосубстанцию добавляли без предварительного микрокапсулирования. В состав 3 в качестве каркасообразующего вещества был добавлен ПЭГ-6000 для оценки возможного

влияния на высвобождение компонентов лекарственного препарата с учётом представленной выше информации.

Таблица 6.1 – Составы модельных композиций матричных таблеток

Компоненты	Состав (г/таб)				
	1	2	3	4	5
Лекарственные вещества					
Гликлазид	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Экстракт травы галеги сухой	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Экстракт корня солодки сухой	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Экстракт листьев мяты	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Вспомогательные вещества					
Каркасобразующие вещества					
Кальция фосфат двузамещенный	0,07	0,06	0,07		
Целлюлоза микрокристаллическая (МКЦ-102)					0,068
Целлюлоза микрокристаллическая «Avicel-PH-103»				0,068	
Полиэтиленгликоль 6000		0,170			0,150
Набухающие гидроколлоиды					
Гипромеллоза				0,07	0,07
Гидроксиэтилцеллюлоза	0,06				
Натрий альгинат		0,08			
Хитозан			0,12		
Связующие пролонгаторы					
Пласдон K-30	0,02				
Пласдон K-90			0,02	0,017	0,018
Лубриканты					
Магния стеарат		0,001	0,001	0,001	0,001
Кальция стеарат	0,001				
Кремния диоксид коллоидный	0,001		0,001	0,001	0,001
ИТОГО	0,382	0,541	0,599	0,387	0,518

Для выбора оптимального состава таблеток комбинированной фитосубстанции и гликлазида, был проведён анализ технологических показателей модельных составов. На первом этапе оценивали комплексный показатель «степень сыпучести». Исследования включали определение сыпучести (скорость протекания массы через отверстие), угол естественного откоса, насыпная плотность, индекс Хауснера и индекс Кара. Определения проводили согласно ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» ГФ XIV издания (методики аналогичны ГФ XV издания). Методики представлены в главе 2. Результаты

испытаний представлены в таблице 6.2, как среднее значение \pm стандартное отклонение.

Таблица 6.2 – Комплексные показатели степени сыпучести модельных составов таблеточной массы

Показатель	Состав				
	1	2	3	4	5
Сыпучесть г/с	5,88 \pm 0,29	6,44 \pm 0,36	6,49 \pm 0,37	6,65 \pm 0,45	7,14 \pm 0,47
Угол естественного откоса, градус	32,5 \pm 1,0	32,3 \pm 1,5	33,8 \pm 0,8	32,3 \pm 1,2	29,5 \pm 1,0
Насыпная плотность до уплотнения, г/мл	0,616 \pm 0,014	0,594 \pm 0,016	0,586 \pm 0,020	0,536 \pm 0,011	0,549 \pm 0,015
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл	0,724 \pm 0,022	0,678 \pm 0,037	0,707 \pm 0,021	0,609 \pm 0,010	0,597 \pm 0,018
Индекс Хауснера	1,17 \pm 0,05	1,14 \pm 0,04	1,21 \pm 0,01	1,14 \pm 0,01	1,09 \pm 0,01
Индекс Кара	14,7 \pm 3,3	12,1 \pm 3,2	17,1 \pm 0,60	12,0 \pm 1,00	8,1 \pm 0,60

По результатам определения скорости сыпучести массы через отверстие, представленным в таблице, сыпучесть составов 1, 2, 3 соответствует значению «удовлетворительная», а составов 4 и 5 – «хорошая». При этом значения угла естественного откоса, формируемые составами 1-4, соответствуют значению «хорошая», в то время как сыпучесть состава 5 по данному параметру соответствует значению «отличная».

Результаты расчёта индексов Хауснера и Кара на основании значений насыпной плотности позволяют оценить как сыпучесть, так и возможность уплотнения массы, что является ключевым параметром при производстве таблеток. По результатам, представленным в таблице 6.2, можно отметить «хорошую» сжимаемость, характерную для составов 1, 2 и 4, «хорошую/приемлемую» для состава 3 и «очень хорошую» для состава 5. Более приемлемый характер сыпучести таблеточной массы состава 5 может быть связан с введением фитосубстанции в микрокапсулированной форме. Учитывая, что растительные экстракты обладают, как правило, плохой сыпучестью данное техническое решение позволяет обеспечить лучшие технологические свойства таблеточной массы.

Одним из ключевых свойств таблеточных масс, оказывающих влияние на технологический процесс, является влажность, поэтому дальнейшие исследования были посвящены оценке данного параметра. Исследование проводили согласно методике ГФ XIV издания (методика аналогична ГФ XV издания). Среднее значение влажности образцов ($n=6$) модельных составов таблеточной массы составило: состав 1 – $6,64 \pm 1,02\%$; состав 2 – $7,40 \pm 1,11\%$; состав 3 – $6,56 \pm 0,80\%$; состав 4 – $5,12 \pm 0,86\%$; состав 5 – $4,59 \pm 0,53\%$. Наименьшее содержание влаги установлено для модельного состава 5.

Склонность сухих экстрактов к отсыреванию вследствие высокой гигроскопичности может приводить к нарушению технологии получения лекарственной формы и оказывать отрицательное влияние на качество готового препарата в процессе хранения. Следовательно, исследование гигроскопичности предложенных модельных составов таблеточной массы является важным и обоснованным этапом исследований.

Анализ проводили согласно ГФ XV издания, методика описана в главе 2, влагопоглощение измеряли через 1, 6, 12 и 24 часов. Результаты определения степени гигроскопичности (увеличение массы испытуемого образца в процентах) представлены на рисунке 6.1.

Средние значения ($n=6$) увеличения массы испытуемых образцов таблеточных масс, представленные на рисунке, позволяют сделать вывод о наименьшей гигроскопичности состава 5.

Таким образом, проведённые исследования модельных образцов предложенных таблеточных масс позволяют заключить: более приемлемыми являются результаты изучаемых параметров для состава 5.

Однако данные показатели больше характеризуют именно массу для получения таблеток, а не саму лекарственную форму, к которой предъявляются иные установленные фармакопейные требования.

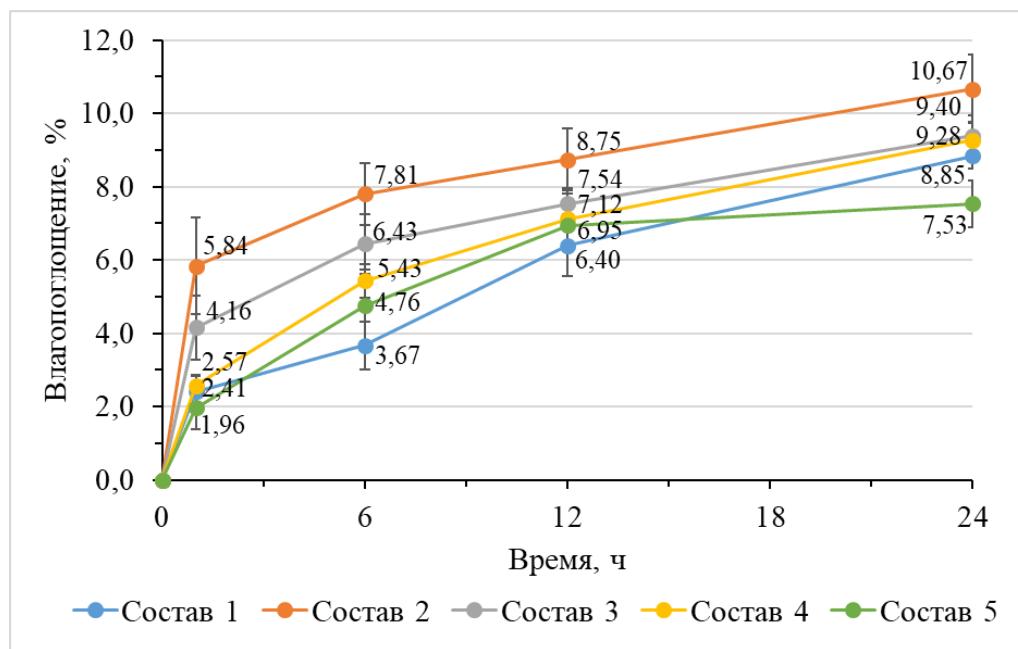


Рисунок 6.1 – Результаты определения гигроскопичности модельных составов таблеточной массы

Дальнейшие исследования были посвящены оценке непосредственно таблетированной формы модельных составов. С этой целью были наработаны опытные серии таблеток предложенных составов. На таблеточной машине РТМ-12 получали плоскоцилиндрические таблетки диаметром 10 мм (составы 1 и 4) и 12 мм (составы 2,3,5). Выбор оптимального состава вспомогательных веществ, обеспечивающих технологическое качество лекарственной формы, проводили на основании средневзвешенных оценок показателей «Прочность таблеток на раздавливание», «Истираемость».

Представленные в таблице 6.3 результаты оценки прочности разработанных составов таблеток позволяют сделать вывод о соответствии исследуемых образцов требованиям ГФ.

Таблица 6.3 – Результаты изучения прочности таблеток

Показатель	Оптимальное значение	Состав				
		1	2	3	4	5
Прочность таблеток, Н	40-100	$47,5 \pm 1,5$	$68,5 \pm 1,0$	$66,2 \pm 1,4$	$56,0 \pm 1,7$	$54,7 \pm 1,2$
Истираемость, %	не более 1%	0,76	0,35	0,42	0,66	0,58

Соответствие разработанных составов таблеток необходимым параметрам высвобождения оценивали по высвобождению гликлазида по результатам теста «Растворение». Учитывая пролонгированный характер высвобождения действующих веществ из таблеток за счёт создания гидрофильной матрицы набухающих гидроколлоидов, выбранных в качестве вспомогательных веществ, были изучены профили высвобождения гликлазида из модельных образцов таблеток в течении 24 часов. Гликлазид выбран в качестве основного компонента для оценки высвобождения, поскольку обладает наименьшей растворимостью в водной среде из всех действующих веществ, входящих в состав. Методика проведения исследования базировалась на методе проведения теста растворения для таблеток гликлазида согласно ОФС.3.1.0019.18 ГФ.

Результаты исследования кинетики высвобождения гликлазида из таблеток представлены на рисунке 6.2. Результаты представлены как среднее значение исследования шести образцов таблеток каждого состава.

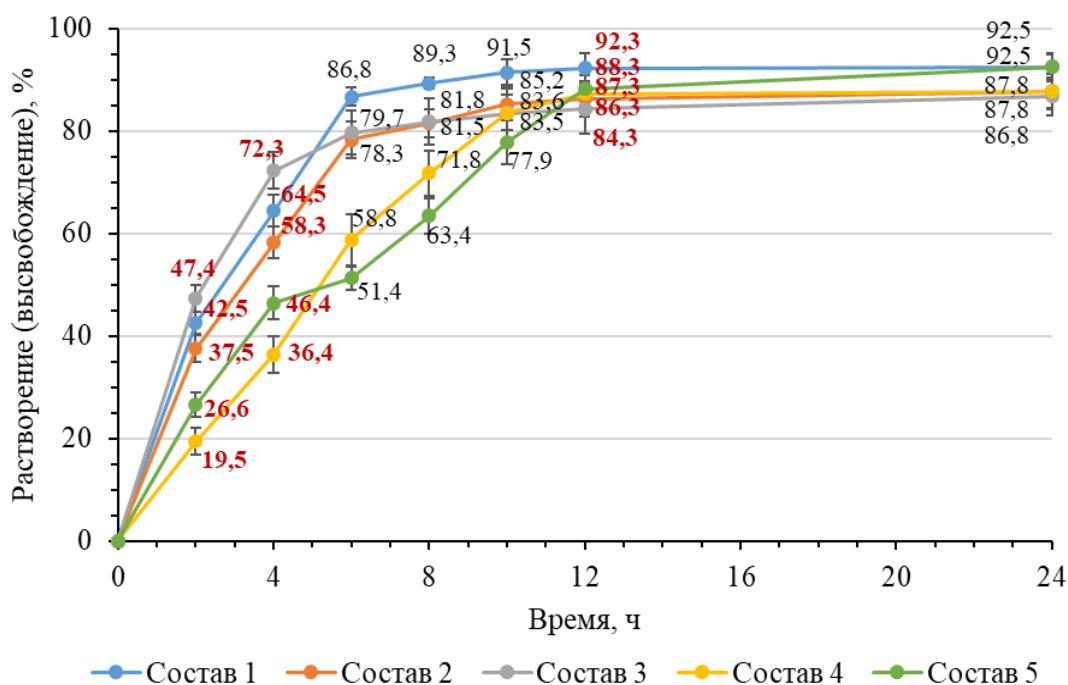


Рисунок 6.2 – Профили высвобождения гликлазида из модельных образцов матричных таблеток

Ключевыми точками для подтверждения пролонгированного высвобождения являлись 2, 4 и 12 часов. При этом референтные значения высвобождения были выбраны с учётом требований ГФ и нормами, предъявляемыми к таблеткам гликлазида с модифицированным высвобождением (ФС.3.1.0019.18), и составили: 2 часа – высвобождение от 15 до 35%, 4 часа – от 30 до 55%, 12 часов – не менее 75%.

Согласно результатам высвобождения гликлазида в ключевых временных точках, составы 1, 2 и 3 не вполне соответствуют выбранным критериям пролонгирования, высвобождение из составов 4 и 5 соответствует заявленным требованиям. С целью выбора оптимального состава проводили оценку на основании совокупности показателей, приведённых в единую систему баллов. Максимальная балльная оценка каждого показателя принята равной 100, учитывая, что при приближении к этой оценке качество оптимизируется. Балльная оценка каждого показателя K_i определялась по формуле:

$$K_i = \left[\frac{X - X_{\text{н}}}{X_{\text{в}} - X_{\text{н}}} \right] \times 100, \quad (9)$$

где: X – натуральное значение технологического показателя;

$X_{\text{в}}, X_{\text{н}}$ – верхний и нижний пределы его допустимых значений.

Результаты расчёта среднеарифметических баллов технологических показателей модельных таблеток представлены в таблице 6.4, результаты анализа, выходящие за рамки допустимых значений, оценивались нулевым баллом.

Таблица 6.4 – Результаты расчёта среднеарифметических баллов технологических показателей модельных таблеток

Состав	Показатели качества (баллы)				
	K_1	K_2	K_3	K_4	$K_{\text{среднее}}$
1	0	0	87	13	24,8
2	0	0	57	48	26,0
3	0	0	47	44	22,5
4	22	26	62	27	34,1
5	58	66	67	25	53,7

K_1 – балльная оценка % растворения за 2 часа; K_2 – балльная оценка % растворения за 4 часа;
 K_3 – балльная оценка % растворения за 12 часов; K_4 – балльная оценка прочности таблеток.

Таким образом, максимальный балл принадлежит составу 5.

Проведённые комплексные исследования модельных образцов таблеточных масс и полученных на их основе образцов таблеток, позволяют сделать выбор в пользу состава 5 как наиболее оптимального с точки зрения технологических свойств массы, так и с точки зрения оценки технологических параметров самих таблеток, а именно, прочности и пролонгированного профиля высвобождения гликлазида из лекарственной формы.

6.2 Разработка технологии получения пролонгированных таблеток гликлазида и фитосубстанции

Основываясь на результатах экспериментальных исследований, предложен оптимальный состав таблеток с пролонгированным высвобождением при следующем содержании компонентов в г/таблетка и масс. %:

Гликлазид	0,06	11,58
Гипромеллоза	0,07	13,51
Микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ-102)	0,068	13,12
Пласдон К-90	0,018	3,48
Кремния диоксид коллоидный	0,001	0,2
Магния стеарат	0,001	0,2
Микрокапсулы:		
Сухой экстракт травы галеги лекарственной	0,05	9,65
Сухой экстракт корня солодки голой	0,07	13,51
Сухой экстракт листьев мяты перечной	0,03	5,79
Полиэтиленгликоль 6000	0,15	28,96
	0,518	100,0

Как отмечалось ранее, предложенный состав пролонгированных таблеток имеет достаточно оригинальную комбинированную структуру, представленную микрокапсулированной фитосубстанцией экстрактов и смесью гликлазида со вспомогательными веществами, обеспечивающими пролонгированное высвобождение за счёт формирования набухающей гидроколлоидной матрицы.

Интегрированная технологическая схема получения разработанного состава таблеток представлена на рисунке 6.3.

И включает, как классические стадии технологического процесса: подготовка производства, стадия таблетирования, операции, связанные с упаковкой и маркировкой продукции, так и процессы микрокапсулирования смеси сухих экстрактов с последующим введением полученного полупродукта в массу для таблетирования.

Технологический процесс микрокапсулирования фитосубстанции подробно представлен в главе 4, раздел 4.1. Последующие стадии получения пролонгированных таблеток связаны с получением таблеточной массы и прессованием таблеток.

С целью получения массы для таблетирования с оптимальными технологическими параметрами, микрокапсулы растительных экстрактов просеивают через вертикальное сито, размер отверстий сеток сит обусловлен требуемым размером микро капсул, верхнее сито должно обеспечивать отделение микрокапсул размером более 0,5 мм (отсев), нижнее сито должно обеспечивать прохождение через отверстия микрокапсул имеющих размер менее 0,2 мм (отсев). Микрокапсулы, имеющие размер 0,2-0,5 мм, собираются с нижнего сита, поступают в сборник и передаются для дальнейшего получения таблеточной массы.

Дальнейшие операции технологического процесса связаны с дозированием по массе гликлазида и вспомогательных компонентов в соответствии с рабочей прописью. Для получения массы для капсулирования в биновый смеситель V-образной формы последовательно добавляют гликлазид и пласдон К90, МКЦ-102 и гипромеллозу, смешивают до однородной массы.

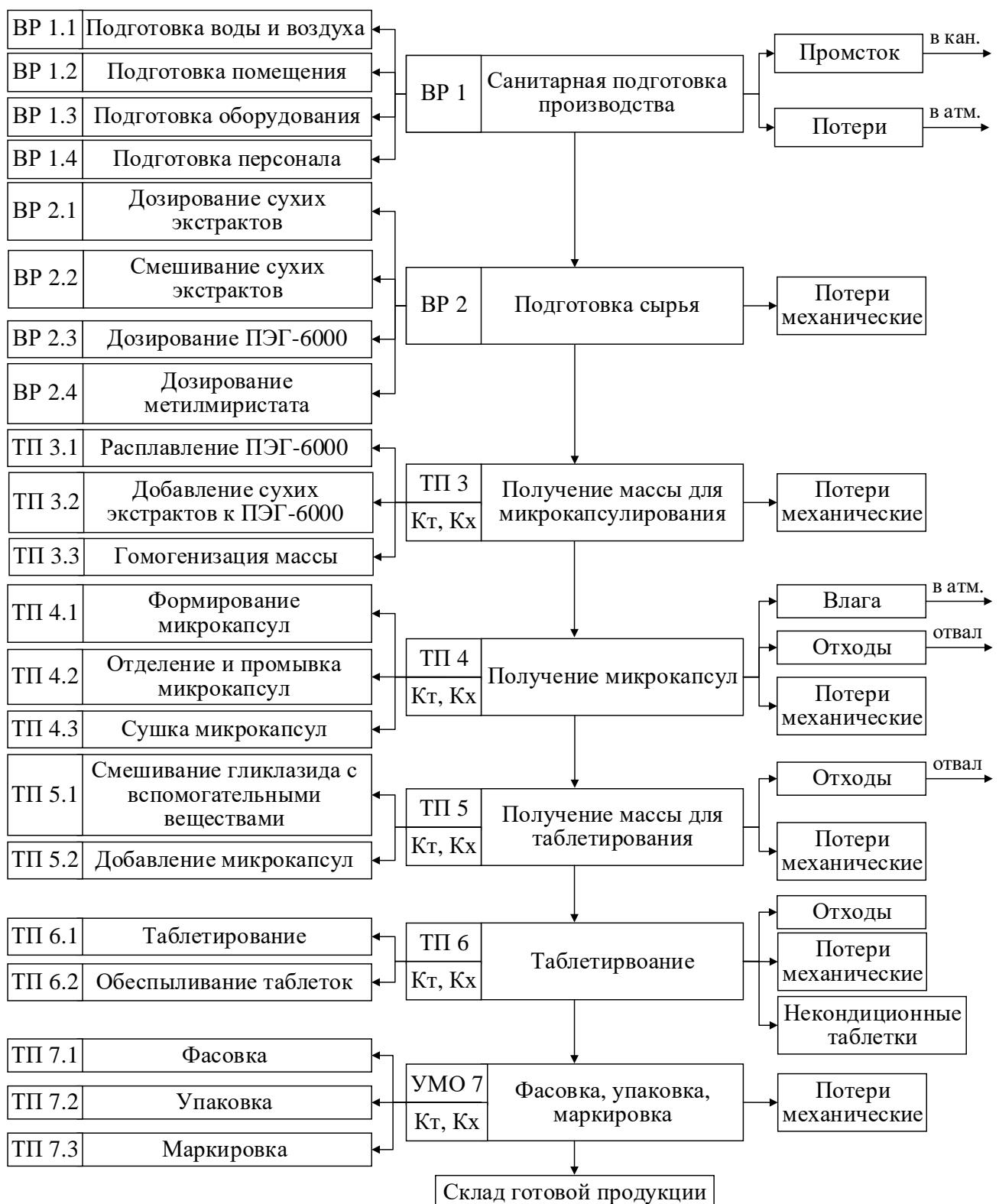


Рисунок 6.3 – Интегрированная технологическая схема получения матричных таблеток гликлазида и микрокапсулированной фитосубстанции

Затем к полученной массе добавляют микрокапсулы и продолжают перемешивание. На последнем этапе вводят кремния диоксид коллоидный и магния стеарат и продолжают перемешивание до однородной массы.

Ключевой стадией технологического процесса является прессование таблеточной массы, полученной на предыдущей стадии технологического процесса. Прессование проводят на роторной таблеточной машине с диаметром матрицы 12 мм. Готовые таблетки обеспыливают и передают на участок упаковки. Как уже было отмечено, стадия ТП 6 является ключевой стадией технологического процесса, следовательно, в процессе производства необходимо периодически осуществлять контроль готовых таблеток по показателям: «Описание», «Однородность массы» и «Прочность на раздавливание».

Готовые таблетки перегружают в бункер счёто-фасовочной машины, в которой осуществляется упаковка таблеток в одностороннюю контурную ячейковую упаковку с последующей герметизацией путём термосваривания. Далее осуществляется отбраковка незаполненных первичных упаковок и нанесение маркировки на первичную упаковку. Заполненные и промаркованные блистеры упаковывают в картонную коробку. Готовую продукцию отправляют на склад.

На основании результатов проведённых исследований и разработанной технологической схемы можно определить ключевые стадии и критические параметры технологического процесса – таблица 6.5. Критические стадии получения микрокапсул представлены в главе 4 раздел 4.1 – таблица 4.10.

Таблица 6.5 – Критические стадии технологического процесса получения таблеток

Наименование критической стадии	Контролируемый параметр	Обоснование
ТП 5 Получение массы для таблетирования	Скорость вращения барабана смесителя, время перемешивания	Нарушение условий смешивания приведёт к потере однородности массы и дозирования

ТП 6.1 Таблетирование	Прочность на раздавливание	Недостаточное давление прессования приводит к снижению прочности таблеток
	Однородность массы таблеток	Отклонение скорости прессования и изменение объёма матрицы (высота нижнего пуансона) приводит к нарушению однородности дозирования

6.3 Стандартизация пролонгированных таблеток гликлазида и фитосубстанции

Стандартизацию таблеток проводили согласно требованиям ОФС.1.4.1.0015.15 «Таблетки» ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.1.0015 «Таблетки» ГФ XV) по показателям «Описание», «Прочность на раздавливание», «Истираемость», «Однородность массы», «Однородность дозирования», «Микробиологическая чистота». Для проведения стандартизации разработанной лекарственной формы были получены опытные серии таблеток. Смешивание компонентов, согласно технологической прописи, проводили на V-образном лабораторном смесителе общей ёмкостью 0,5 л (VENUS FTLMV-0,5) с последующим прессованием таблеточной массы на РТМ-12.

Полученные таблетки имеют круглую плоскоцилиндрическую форму, с фаской, диаметр 12 мм, высота 4 мм, таблетки белого цвета с тёмными вкраплениями – рисунок 6.4.



Рисунок 6.4 – Внешний вид таблеток

Оценку качества таблеток по показателю «Прочность на раздавливание» проводили согласно ОФС.1.4.2.0011.15 ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.2.0011. «Прочность таблеток на раздавливание» ГФ XV). Результаты испытания 6 серий образцов таблеток представлены в таблице 6.6. Согласно требованиям государственной фармакопеи, минимально допустимая прочность таблеток диаметром 12 мм должна быть не менее 50 Н.

Таблица 6.6 – Результаты анализа таблеток по показателю «Прочность на раздавливание»

Образец	Прочность, Н					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
1	54	52	57	58	59	52
2	50	53	58	55	58	54
3	54	53	54	54	52	54
4	56	52	53	59	52	57
5	54	56	53	59	53	57
6	55	55	52	52	58	55
7	54	54	58	53	58	56
8	56	55	55	51	53	53
9	51	55	55	52	55	55
10	56	52	56	55	52	57
Среднее значение, Н	54	53,7	55,1	54,8	55	55
Стандартное отклонение	2,1	1,5	2,1	3,0	2,9	1,8

Результаты, представленные в таблице 6.6, позволяют сделать вывод о соответствии исследуемых образцов таблеток требованиям ГФ по исследуемому показателю. Следует отметить, что данный показатель выступает в качестве критерия оценки качества таблеток на стадии таблетирования в рамках технологического контроля.

Оценку качества таблеток по показателю «Истираемость» проводили согласно ОФС.1.4.2.0004.15 ГФ XIV (соответствует ОФС.1.1.1.0015. «Истираемость таблеток» ГФ XV). Результаты испытания 6 серий образцов таблеток представлены в таблице 6.7. Согласно требованиям государственной фармакопеи, потеря в массе таблеток не должна превышать 1%.

Таблица 6.7. – Результаты анализа таблеток по показателю «Истираемость»

Параметр	Серия					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
$m_{\text{до}}, \text{г}$	6,774	6,877	6,812	6,867	6,835	6,725
$m_{\text{после}}, \text{г}$	6,735	6,836	6,773	6,829	6,793	6,685
$\Delta m, \%$	0,58	0,60	0,57	0,55	0,61	0,59

$m_{\text{до}}$ – масса таблеток до проведения испытания, г; $m_{\text{после}}$ – масса таблеток после проведения испытания, г; Δm – потеря в массе таблеток, %.

Результаты, представленные в таблице 6.7, позволяют сделать вывод о соответствии исследуемых образцов таблеток требованиям ГФ по исследуемому показателю.

Оценку качества таблеток по показателю «Однородность массы» проводили согласно ОФС.1.4.2.0009.15 ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.2.0009 «Однородность массы дозированных лекарственных форм» ГФ XV). Результаты испытания 6 серий образцов таблеток представлены в таблице 6.8.

Согласно требованиям государственной фармакопеи, допустимое отклонение индивидуальной массы таблеток от среднего значения не должно превышать 5%. Результаты, представленные в таблице 6.8, позволяют сделать вывод о соответствии исследуемых образцов требованиям ГФ.

Стоит отметить, что данный показатель также используется как критерий оценки качества таблеток на стадии таблетирования в рамках технологического контроля.

Согласно ОФС.1.4.2.0008.18 «Однородность дозирования» ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.2.0008 «Однородность дозирования» ГФ XV), испытание на однородность дозирования может быть проведено двумя способами: непосредственным определением содержания действующего вещества в каждой единице таблетки, либо точным определением массы отдельных таблеток, соотнесенных с результатами количественного определения действующего вещества.

Таблица 6.8 – Результаты определения показателя «Однородность массы» таблеток

Образец	Серия											
	S1		S2		S3		S4		S5		S6	
	m, г	s, %										
1	0,498	4,8	0,498	3,9	0,504	3,1	0,511	1,0	0,523	-0,8	0,539	-4,2
2	0,499	4,6	0,517	0,2	0,512	1,5	0,514	0,4	0,537	-3,5	0,529	-2,3
3	0,503	3,8	0,523	-1,0	0,501	3,7	0,521	-1,0	0,511	1,5	0,497	3,8
4	0,541	-3,4	0,517	0,2	0,528	-1,5	0,498	3,5	0,519	0,0	0,54	-4,4
5	0,523	0,0	0,51	1,5	0,51	1,9	0,503	2,5	0,497	4,2	0,526	-1,7
6	0,526	-0,6	0,511	1,4	0,532	-2,3	0,504	2,3	0,519	0,0	0,526	-1,7
7	0,543	-3,8	0,524	-1,2	0,522	-0,4	0,501	2,9	0,513	1,2	0,517	0,0
8	0,498	4,8	0,505	2,5	0,526	-1,2	0,536	-3,9	0,531	-2,3	0,511	1,1
9	0,505	3,4	0,523	-1,0	0,499	4,0	0,534	-3,5	0,54	-4,0	0,503	2,7
10	0,536	-2,5	0,499	3,7	0,518	0,4	0,523	-1,4	0,539	-3,9	0,513	0,8
11	0,538	-2,9	0,533	-2,9	0,52	0,0	0,513	0,6	0,51	1,7	0,511	1,1
12	0,542	-3,6	0,497	4,1	0,536	-3,1	0,512	0,8	0,514	1,0	0,53	-2,5
13	0,532	-1,7	0,502	3,1	0,515	1,0	0,514	0,4	0,523	-0,8	0,524	-1,3
14	0,513	1,9	0,535	-3,3	0,517	0,6	0,507	1,7	0,507	2,3	0,502	2,9
15	0,518	1,0	0,538	-3,9	0,522	-0,4	0,515	0,2	0,506	2,5	0,516	0,2
16	0,521	0,4	0,53	-2,3	0,521	-0,2	0,509	1,4	0,527	-1,5	0,503	2,7
17	0,540	-3,3	0,538	-3,9	0,537	-3,3	0,527	-2,1	0,508	2,1	0,52	-0,6
18	0,537	-2,7	0,535	-3,3	0,524	-0,8	0,507	1,7	0,503	3,1	0,507	1,9
19	0,529	-1,1	0,517	0,2	0,535	-2,9	0,531	-2,9	0,529	-1,9	0,522	-1,0
20	0,522	0,2	0,512	1,2	0,523	-0,6	0,532	-3,1	0,528	-1,7	0,502	2,9
m_{cp}	0,523		0,518		0,520		0,516		0,519		0,517	

m – масса каждой таблетки, г; m_{cp} – средняя масса таблеток, г; s – отклонение индивидуальной массы от средней массы, %.

Первый метод является более приемлемым, поскольку позволяет провести оценку однородности дозирования лекарственного препарата с позиций количественного содержания действующего вещества в каждой дозе.

Второй метод является более экономичным с точки зрения затрат лекарственной формы, реактивов и времени проведения анализа. Однако, учитывая содержание действующего вещества – гликлазида в количестве менее 25% от массы дозированной единицы, согласно ГФ, проведение испытания разработанных таблеток по показателю «Однородность дозирования» проводится согласно методу 1. Результаты анализа 6 серий таблеток, расчёты критерия приемлемости представлены в таблице 6.9.

Таблица 6.9 – Результаты анализа таблеток по показателю «Однородность дозирования»

Образец	Серия					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
	X, %					
1	103,3	98,3	98,3	96,7	103,3	100,0
2	95,0	103,3	100,0	95,0	105,0	95,0
3	93,3	101,7	105,0	100,0	105,0	108,3
4	98,3	95,0	93,3	91,7	95,0	96,7
5	101,7	103,3	95,0	110,0	100,0	101,7
6	105,0	93,3	103,3	100,0	105,0	98,3
7	98,3	108,3	103,3	96,7	105,0	93,3
8	101,7	101,7	95,0	105,0	103,3	103,3
9	96,7	96,7	105,0	101,7	93,3	100,0
$\bar{X}, \%$	99,8	100,2	100,5	100,3	101,3	99,5
S	4,12	4,48	4,85	5,65	4,43	4,31
RSD	4,12	4,47	4,82	5,64	4,37	4,33
AV	9,9	10,7	11,6	13,6	10,6	10,3
L1	15,0					
X – количественное содержание гликлазида в таблетке, %; \bar{X} – среднее значение количественного содержания гликлазида в таблетках, %; S – стандартное отклонение от среднего значения; RSD – относительное стандартное отклонение; AV – приёмлемое значение, %; L1 – максимально допустимое значение AV, %						

Согласно данным, представленным в таблице 6.9, рассчитанное значение критерия приемлемости (AV) меньше максимально допустимого значения (L1),

что, согласно ГФ, свидетельствует о соответствии таблеток требованиям по показателю «Однородность дозирования».

Удовлетворительные результаты анализа шести серий разработанных комбинированных таблеток по показателям «Прочность на раздавливание», «Истираемость», «Однородность массы», «Однородность дозирования» дополнительно подтверждают выбор разработанного состава таблеток как наиболее оптимальный, а полученные результаты можно использовать для утверждения норм качества, разработанных комбинированных таблеток по перечисленным показателям.

Определение микробиологической чистоты проводили по ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота», согласно требованиям ГФ разработанный состав таблеток должен соответствовать категории 3А микробиологической чистоты. Оценку микробиологической чистоты проводили в рамках исследований по определению сроков годности.

Полученные результаты позволяют установить показатели качества разработанных таблеток.

6.4 Фармакологические исследования разработанного состава пролонгированных таблеток гликлазида и фитосубстанции

Определение противодиабетического действия разработанных комбинированных таблеток гликлазида и микрокапсулированной фитосубстанции проводили на крысах самцах *Wistar* с аллоксан-индуцированной моделью сахарного диабета второго типа, дизайн исследования представлен на рисунке 6.5.

Методика постановки аллоксанового сахарного диабета второго типа представлена в главе 2. Эффективность разработанных таблеток (состав 5) изучали после однократного введения, накопительный эффект оценивали на седьмые и четырнадцатые сутки применения путём проведения теста на резистентность к пероральной глюкозе. Методика проведения теста на резистентность представлена в главе 2.



Рисунок 6.5 – Дизайн сравнительного исследования специфической активности разработанного состава таблеток (состав 5)

Методом парных аналогов было сформировано 3 группы животных ($n=9$) с сахарным диабетом, с концентрацией глюкозы в крови более 20 ммоль/л, также была сформирована 4 группа интактных животных ($n=9$) без сахарного диабета с целью мониторинга физиологического уровня глюкозы. В качестве препарата сравнения использовали таблетки гликлазида с модифицированным высвобождением. Группе 1 вводили модельные образцы комбинированных таблеток разработанного состава, расчёт дозы проводили по гликлазиду 60 мг/кг. Группе 2 вводили препарат сравнения в дозе 60 мг/кг, расчёт также проводили по гликлазиду, группе 3 вводили модельные образцы таблеток плацебо. Группе 4 вводили эквивалентное по объёму исследуемым препаратам количество воды очищенной. Расчёт доз проводили с учётом межвидового коэффициента пересчёта.

Результаты исследования специфической активности разработанного состава таблеток после однократного применения представлены на рисунке 6.6.

До введения препаратов средние значения концентрации глюкозы в крови животных с сахарным диабетом в сформированных группах находились на

уровне: группа 1 – $22,2 \pm 1,2$ ммоль/л; группа 2 – $22,4 \pm 1,4$ ммоль/л; группа 3 – $22,6 \pm 1,5$ ммоль/л, и значимо не отличались. Концентрация глюкозы в крови интактных животных составляла $7,14 \pm 0,6$ ммоль/л.

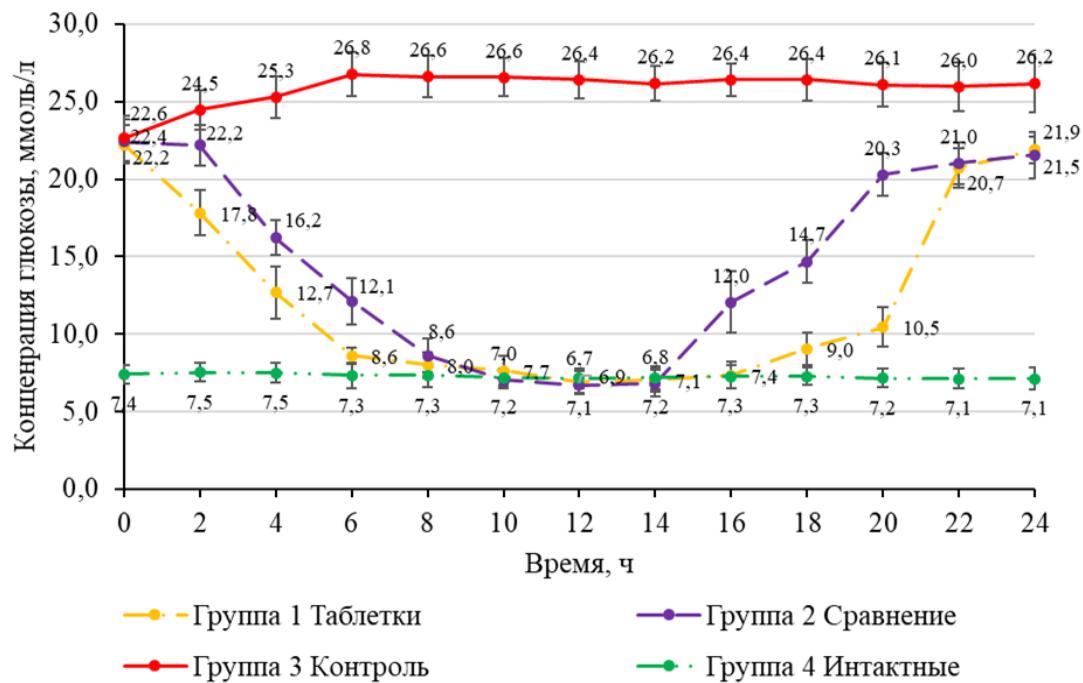


Рисунок 6.6 – Динамика изменения концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных после однократного введения препаратов

На фоне введения разработанного состава комбинированных таблеток статистически значимое уменьшение (на 19,8%) концентрации глюкозы в крови животных (группа 1) отмечено уже через 2 часа, и данная тенденция сохраняется в течение первых 6 часов исследования ($p < 0.05$). Через 8 часов концентрация глюкозы в крови животных первой и четвертой группы была сопоставима, что свидетельствует о достижении физиологически приемлемого уровня гликемии, данная тенденция сохранялась в течение следующих 8 часов. Также следует отметить, что концентрация глюкозы в крови животных группы 1 через 24 часа после введения разработанного состава таблеток меньше на 19,6%, чем в контрольной группе 3.

Значимое снижение концентрации глюкозы в крови животных, получающих препарат сравнения (группа 2), наблюдалось через 4 часа (на 27,7%) после однократного введения ($p < 0.05$). Через 10 часов уровень гликемии в крови животных группы сравнения был сопоставим с группой 4, данный эффект сохранялся в течение следующих 6 часов.

Уровень гликемии в крови животных контрольной группы (группа 3) находился на высоком уровне в течение всего времени исследования.

При проведении сравнительного анализа полученных результатов определения противодиабетической активности разработанного препарата и препарата сравнения следует отметить ряд аспектов.

Сахароснижающий эффект после однократного введения предложенного состава таблеток развивается раньше и более стремительно, в течение первых 6 часов эксперимента среднее значение концентрации глюкозы в крови животных группы 1 меньше в среднем на $23,1 \pm 4,9\%$ относительно группы сравнения. Кроме того, стоит отметить, что разработанный состав комбинированной таблетированной формы поддерживает физиологический уровень глюкозы в крови животных группы 1 дольше, чем препарат сравнения. Также нельзя не отметить менее интенсивную динамику роста концентрации глюкозы в крови животных группы 1 в течение 16-20 часов эксперимента, уровень гликемии на $41,9 \pm 5,7\%$ меньше в группе 1, чем в группе 2.

Дальнейшие исследования были посвящены изучению накопительного действия разработанного состава комбинированных таблеток в teste на резистентность к глюкозе на седьмые и четырнадцатые сутки.

На рисунке 6.8 представлены результаты проведения теста на резистентность к пероральному введению глюкозы на седьмые сутки применения разработанного препарата.

Концентрация глюкозы в крови животных на фоне ежедневного введения разработанного препарата в течение семи дней снизилась ($p < 0.05$) от первоначального уровня в группе 1 на 64,4%, в группе 2 на 71,9%, при этом уровень гликемии в группе 2 значительно меньше, чем в группе 1 ($p < 0.05$).

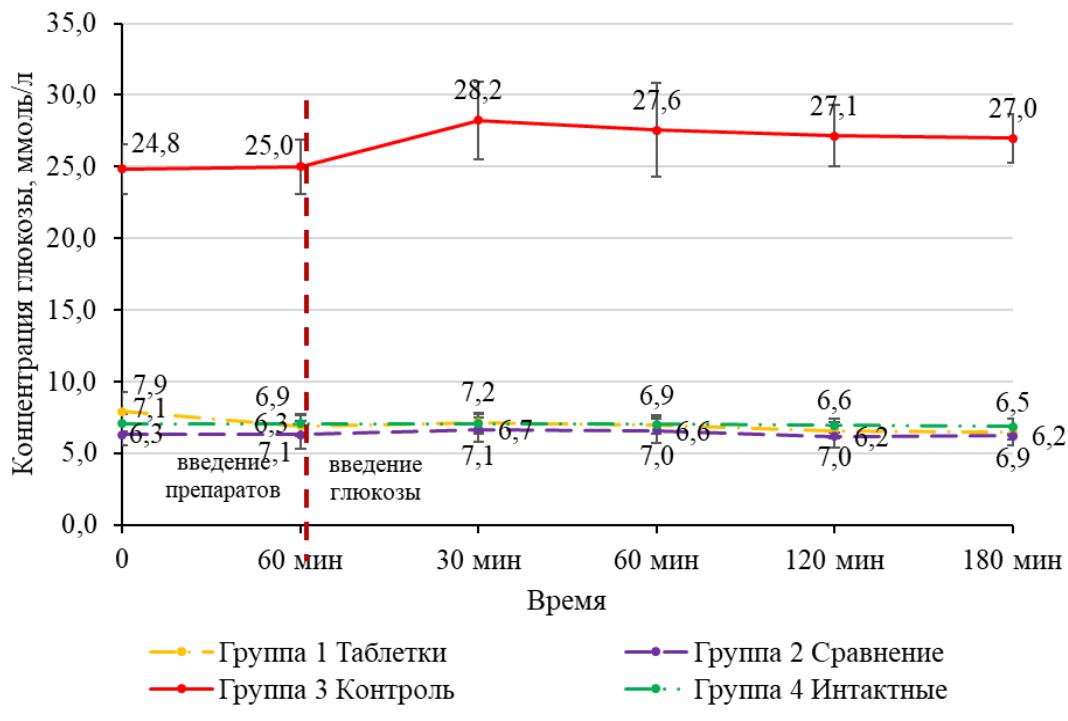


Рисунок 6.8 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (7-ые сутки)

Однако, стоит отметить, что концентрация глюкозы в крови животных группы 1 сопоставима с группой 4 ($p>0.05$), в то время как концентрация глюкозы в крови животных группы 2 значительно меньше, чем в группе 4 ($p<0.05$), но не выходит за пределы физиологической нормы. Через час после введения исследуемых препаратов статистически значимое уменьшение концентрации глюкозы в крови животных наблюдалось только в группе 1, при этом не выходя за границы физиологической нормы.

После перорального введения 5% раствора глюкозы в группах 1 и 2 повышения концентрации глюкозы в крови животных не наблюдалось. Уровни гликемии сопоставимы с физиологической нормой на протяжении всего времени эксперимента. В контрольной группе отмечается рост концентрации глюкозы в крови животных после перорального введения глюкозы.

На рисунке 6.9 представлены результаты проведения теста на резистентность к пероральному введению глюкозы на четырнадцатые сутки применения разработанного препарата.

После перорального введения 5% раствора глюкозы в группах 1 и 2 повышения концентрации глюкозы в крови животных также не наблюдалось. Уровни гликемии сопоставимы с физиологической нормой на протяжении всего времени эксперимента. В контрольной группе также отмечается рост концентрации глюкозы в крови животных после перорального введения глюкозы.

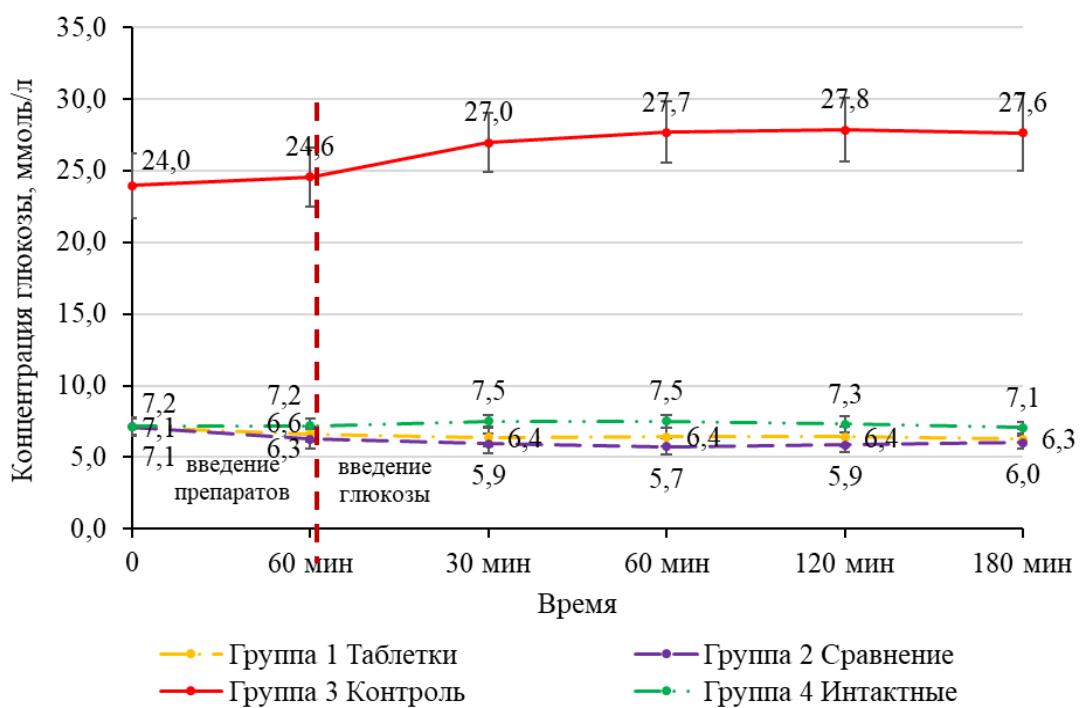


Рисунок 6.9 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (14-ые сутки)

Полученные результаты сравнительного исследования специфической сахароснижающей активности комбинированной таблетированной формы гликлазида и микрокапсулированной фитосубстанции свидетельствует о более раннем наступлении эффекта разработанного препарата по сравнению с классическим препаратом, а также большей продолжительностью действия. При

этом следует отметить сопоставимую эффективность разработанного препарата в стабильном поддержании уровня гликемии в крови животных на физиологически значимом уровне при пероральном введении глюкозы.

6.5 Изучение стабильности и сроков годности матричных таблеток

Изучение стабильности и определение сроков годности матричных таблеток гликлазида и микрокапсулированной фитосубстанции проводили в трех сериях опытных образцов. На основании ОФС.1.4.1.0015 «Таблетки», с учётом ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» (соответствует ОФС. 1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств») были сформированы ключевые показатели качества.

Анализ образцов опытных серий S7-S9 проводили по таким показателям, как:

- описание,
- однородность массы (средняя масса таблеток),
- однородность дозирования,
- распадаемость,
- истираемость,
- прочность на раздавливание
- растворение,
- микробиологическая чистота.

Исследования проводили согласно методикам указанным в общих фармакопейных статьях ГФ XV.

Также проводили анализ подлинности состава и количественный анализ по гликлазиду и глицирризиновой кислоте. Результаты исследования предложенного состава комбинированных матричных таблеток, представленные в разделе 6.3 позволили утвердить значения показателей норм качества разработанных таблеток.

Результаты проведенного долгосрочного испытания стабильности и исследованию сроков годности трех серий таблеток, представлены в таблицах 6.9-6.11. Исследуемые образцы таблеток соответствовали нормам качества во всех временных точках.

Рекомендуемый срок годности составляет 24 +6 месяцев.

Таблица 6.9 – Результаты определения сроков годности матричных таблеток – серия 7 (S7)

Показатели качества	Норма					Срок хранения (месяцев)
	6	12	18	24	30	
Внешний вид (описание)	Таблетки круглой плоскоцилиндрической формы, с фаской, диаметр 12 мм, высота 4 мм, таблетки белого цвета с темными вкраплениями	+	+	+	+	+
Подлинность гликлазид	объём удерживания пика на хроматограмме испытуемого раствора должен соответствовать объёму удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора гликлазида	+	+	+	+	+
Подлинность глицирризиновая кислота	1. УФ - спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при 258 нм+3 нм	+	+	+	+	+
	2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты разведенной 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора аммиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается	+	+	+	+	+
Средняя масса таблеток	Соответствие требованию ОФС.1.4.2.0009. ГФ РФ XV изд. ±5%	+	+	+	+	+
Количественное определение гликлазид	0,06 ± 10% (0,054-0,066 г/таблетка)	+	+	+	+	+
Количественное определение глицирризиновая кислота	0,014 ± 10% (0,0126-0,0154 г/таблетка)	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	соответствие требованию ОФС.1.4.2.0008 ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Прочность на раздавливание	соответствие требованию ОФС.1.1.1.0017 ГФ РФ XV изд.					
Истираемость	соответствие требованию ОФС.1.1.1.0015 ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Растворение	Время, часы	Высвобождение гликлазида, %				
	2	15-35	+	+	+	+
	4	30-55	+	+	+	+
	12	75-95	+	+	+	+
Микробиологическая чистота	Категория 3А	+	+	+	+	+

Таблица 6.10 – Результаты определения сроков годности матричных таблеток – серия 8 (S8)

Показатели качества	Норма	Срок хранения (месяцев)				
		6	12	18	24	30
Внешний вид (описание)	Таблетки круглой плоскоцилиндрической формы, с фаской, диаметр 12 мм, высота 4 мм, таблетки белого цвета с темными вкраплениями	+	+	+	+	+
Подлинность гликлазид	объём удерживания пика на хроматограмме испытуемого раствора должен соответствовать объёму удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора гликлазида	+	+	+	+	+
Подлинность глицирризиновая кислота	1. УФ - спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при 258 нм+3 нм	+	+	+	+	+
	2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты разведенной 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора аммиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается	+	+	+	+	+
Средняя масса таблеток	Соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0009. ГФ РФ XV изд. $\pm 5\%$	+	+	+	+	+
Количественное определение гликлазид	$0,06 \pm 10\%$ (0,054-0,066 г/таблетка)	+	+	+	+	+
Количественное определение глицирризиновая кислота	$0,014 \pm 10\%$ (0,0126-0,0154 г/таблетка)	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0008 ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Прочность на раздавливание	соответствие требованиям ОФС.1.1.1.0017 ГФ РФ XV изд.					
Истираемость	соответствие требованиям ОФС.1.1.1.0015 ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Растворение	Время, часы	Высвобождение гликлазида, %				
	2	15-35	+	+	+	+
	4	30-55	+	+	+	+
	12	75-95	+	+	+	+
Микробиологическая чистота	Категория 3А	+	+	+	+	+

Таблица 6.11 – Результаты определения сроков годности матричных таблеток – серия 9 (S9)

Показатели качества	Норма	Срок хранения (месяцев)				
		6	12	18	24	30
Внешний вид (описание)	Таблетки круглой плоскоцилиндрической формы, с фаской, диаметр 12 мм, высота 4 мм, таблетки белого цвета с темными вкраплениями	+	+	+	+	+
Подлинность гликлазид	объём удерживания пика на хроматограмме испытуемого раствора должен соответствовать объёму удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора гликлазида	+	+	+	+	+
Подлинность глицирризиновая кислота	1. УФ - спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при 258 нм+3 нм	+	+	+	+	+
	2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты разведенной 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора аммиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается	+	+	+	+	+
Средняя масса таблеток	Соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0009. ГФ РФ XV изд. $\pm 5\%$	+	+	+	+	+
Количественное определение гликлазид	$0,06 \pm 10\%$ (0,054-0,066 г/таблетка)	+	+	+	+	+
Количественное определение глицирризиновая кислота	$0,014 \pm 10\%$ (0,0126-0,0154 г/таблетка)	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	соответствие требованиям ОФС.1.4.2.0008 ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Прочность на раздавливание	соответствие требованиям ОФС.1.1.1.0017 ГФ РФ XV изд.					
Истираемость	соответствие требованиям ОФС.1.1.1.0015 ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Растворение	Время, часы	Высвобождение гликлазида, %				
	2	15-35	+	+	+	+
	4	30-55	+	+	+	+
	12	75-95	+	+	+	+
Микробиологическая чистота	Категория 3А	+	+	+	+	+

Заключение по главе 6

1. Анализ научной информации по разработке пролонгированных таблеток позволил выбрать матричную модель формы в качестве наиболее оптимальной. Представленные сведения о вспомогательных веществах для получения матричных таблеток, в том числе и исследования в области разработки пролонгированных форм гликлазида, позволили сформировать модельные составы таблеток. Результаты исследований предложенных составов по ключевым комплексным технологическим параметрам таблеточной массы и готовых таблеток, а также оценка профиля высвобождения действующих веществ, позволили обосновать выбор состава пролонгированных таблеток гликлазида с микрокапсулированной фитосубстанцией.

2. На основании проведенных технологических исследований состава таблеток впервые предложена интегрированная технологическая схема производства пролонгированных таблеток гликлазида с фитосубстанцией, включающая процесс микрокапсулирования растительных экстрактов. Определены критические точки производства.

3. Проведена стандартизация полученных образцов пролонгированных таблеток по показателям качества согласно требованиям ГФ. Результаты исследования подтверждают соответствие разработанного состава таблеток требованиям нормативной документации. Установлены показатели качества таблеток.

4. Проведенные фармакологические исследования свидетельствуют о более раннем наступлении антидиабетического эффекта на фоне применения разработанной комбинированной таблетированной лекарственной формы по сравнению с препаратом сравнения и её большей пролонгированности. При этом, следует отметить сопоставимую эффективность разработанного препарата в поддержании уровня гликемии в крови животных на физиологически значимом уровне при пероральном введении глюкозы.

5. По результатам оценки долгосрочной стабильности и срока годности разработанного состава матричных таблеток гликлазида, определены регламентные нормы показателей качества, в том числе и норма содержания действующих веществ, и допустимые отклонения от нормы. В рамках утвержденных норм качества срок годности лекарственного препарата составил 24 + 6 месяцев.

ГЛАВА 7 РАЗРАБОТКА СОВРЕМЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ – САШЕ–ГРАНУЛ

Среди широкого ассортимента твёрдых лекарственных форм, особое внимание на сегодняшний день заслуживают твёрдые лекарственные формы, используемые в «восстановленном» состоянии. Одной из таких лекарственных форм являются саше-гранулы, применение которых возможно, как в «сухом» виде, так и в «восстановленном» - предварительно растворенном/диспергированном состоянии. Это безусловно обеспечивает расширенные потребительские свойства, обеспечивающие удобство приёма, и возможность придания оптимальных органолептических свойств. Учитывая, что форма саше-гранул относится к твердой сыпучей лекарственной форме, для которой ключевой характеристикой является сыпучесть, направленное гранулирование является важным этапом технологического процесса.

Гранулирование производится для повышения однородности распределения действующих компонентов в конечном продукте, для увеличения плотности смеси, чтобы она занимала меньший объём на единицу веса для лучшего хранения и транспортировки, для облегчения дозирования или объёмного дозирования, для уменьшения пыли в процессе производства и снижения загрязнения оборудования и производственных помещений, а также для улучшения внешнего вида препарата [205-207].

7.1 Выбор и фармакотехнологическое обоснование состава, комбинированных саше-гранул гликлазида с фитосубстанцией

В процессе производства гранул применяют классические для производства твёрдых лекарственных форм группы вспомогательных веществ, среди которых ключевая роль отводится наполнителям и связующим веществам. Выбор последних оказывает влияние не только на качество готовой продукции, но и на выбор варианта технологического процесса.

В качестве наиболее распространенных наполнителей при производстве гранул используют лактозу, сахарозу, фруктозу и прочие углеводы, что не применимо при разработке противодиабетических препаратов.

Среди альтернативных наполнителей, обладающих связующими свойствами широкое применение в технологии твёрдых лекарственных форм, нашла микрокристаллическая целлюлоза, также не оказыывающая влияние на уровень гликемии [208,209]. Особое внимание привлекает мальтодекстрин. В исследовании [210] наиболее положительные результаты разработки состава гранул Альфредии поникшей в качестве наполнителя дал мальтодекстрин, обеспечив кроме надлежащего качества гранул, удовлетворительные органолептические свойства, что особенно важно при создании гранул, применяемых путём растворения/диспергирования перед применением.

Природные полимеры по-прежнему остаются привлекательными для фармацевтических исследователей и производителей в качестве вспомогательных веществ из-за преимуществ, которыми они обладают по сравнению с их полусинтетическими и синтетическими аналогами. Одним из таких полимеров является пектин. Пектин широко используемая пищевая добавка полисахаридного типа, являющийся побочным продуктом пищевых производств, получаемый из яблочных выжимок или кожуры цитрусовых [211,212]. В исследованиях [213,214] показано положительное влияние яблочного пектина на процесс получения таблеток как прямым прессованием, так и с предварительным гранулированием. Однако несмотря на выявленные положительные тенденции, авторами отмечена необходимость добавления дополнительных связующих компонентов. Учитывая обширный рынок получения пектина, рассмотрение его в качестве вспомогательного вещества в технологии производства гранул является актуальным.

Учитывая имеющиеся литературные данные, в том числе рассмотренные в предыдущих главах, были предложены модельные композиции вспомогательных веществ для получения, комбинированных саше-гранул гликлазида и фитосубстанции – таблица 7.1.

Таблица 7.1 – Составы модельных композиций саше-гранул для получения, комбинированного саше-гранул гликлазида и фитосубстанции

Компоненты	Состав		
	1	2	3
Лекарственные вещества			
Гликлазид	0,06	0,06	0,06
Сухой экстракт травы галеги	0,1	0,1	0,1
Сухой экстракт корня солодки	0,6	0,6	0,6
Сухой экстракт листьев мяты	0,3	0,3	0,3
Вспомогательные вещества			
Наполнители, разбавители			
Микрокристаллическая целлюлоза	2,0	-	-
Мальтодекстрин	-	2,0	-
Пектин	-	-	2,0
Сухие связующие компоненты			
Метилцеллюлоза	0,3	-	-
Гидроксипропилметилцеллюлоза	-	0,25	-
Гидроксиэтилцеллюлоза	-	-	0,5
Гранулирующая жидкость			
Коллидон-К30*	0,2	0,2	0,2
Итого	3,56	3,51	3,76

* – в виде 20% раствора в 20% спирте этиловом.

Для выбора оптимального состава комбинированных гранул гликлазида и фитосубстанции, был проведён анализ технологических показателей модельных составов гранул, полученных в лабораторных условиях методом влажного гранулирования.

На первом этапе оценивали комплексный показатель «степень сыпучести». Исследования включали определение в качестве основных показателей: сыпучести (скорость протекания массы через отверстие), угол естественного откоса и дополнительных: насыпная плотность, индекс Хауснера и индекс Кара. Определения проводили согласно ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» ГФ XIV издания (методики аналогичны ГФ XV издания). Методики представлены в главе 2. Результаты испытаний представлены в таблице 7.2 как среднее значение \pm стандартное отклонение.

По результатам определения скорости сыпучести массы через отверстие, представленным в таблице, сыпучесть составов 1 и 2 соответствует значению «отличная», а состава 3 – «хорошая».

Таблица 7.2 – Комплексные показатели степени сыпучести модельных составов саше-гранул

Показатель	Состав		
	1	2	3
Сыпучесть г/с	9,21±0,24	7,59±0,52	9,99±0,47
Угол естественного откоса, градус	28,5±1,4	28,0±1,4	28,0±0,9
Насыпная плотность до уплотнения, г/мл	0,593±0,018	0,551±0,010	0,560±0,018
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл	0,725±0,015	0,654±0,015	0,629±0,012
Индекс Хауснера	1,22±0,05	1,19±0,04	1,12±0,03
Индекс Кара	18,1±3,6	15,8±2,7	10,9±2,6

При этом значения угла естественного откоса, формируемые исследуемыми составами, соответствуют значению «отличная». По результатам расчёта индексов Хауснера и Кара на основании значений насыпной плотности можно отметить «хорошую» сжимаемость, характерную для составов 2 и 3, «приемлемую» для состава 1.

Одним из ключевых факторов, оказывающих влияние на сыпучесть гранул, является фракционный состав. Согласно требованиям ГФ IV (ГФ XV), размер гранул должен соответствовать диапазону 0,2-3,0 мм. При этом, суммарное содержание фракций менее 0,2 мм и более 3,0 мм не должно превышать 5%. Следует отметить, что широкий разброс частиц по размеру ухудшает параметры сыпучести массы, следовательно, чем меньше широта фракционного состава, тем масса более приёмлема с точки зрения технологических свойств. Поэтому, дальнейшие исследования предложенных составов были посвящены анализу фракционного состава гранул, согласно ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ» ГФ XIV издания (методика аналогична ГФ XV издания). Результаты исследования фракционного состава трех серий опытных образцов представлены в таблице 7.3, как среднее значение ± стандартное отклонение, а на рисунке 7.1 – в виде кривой распределения частиц.

Таблица 7.3 – Результаты анализа фракционного состава образцов опытных серий

Состав	Фракционный состав, %							
	< 0,2 мм	0,2-0,4 мм	0,4-0,5 мм	0,5-0,8 мм	0,8-1,0 мм	1,0-2,0 мм	2,0-3,0 мм	3,0 > мм
1	2,58 ± 0,49	34,11 ± 9,69	38,84 ± 12,81	12,92 ± 6,56	7,38 ± 4,46	2,48 ± 0,55	1,44 ± 0,32	0,25 ± 0,08
2	1,74 ± 0,60	3,07 ± 0,44	3,31 ± 0,90	11,78 ± 4,64	21,87 ± 1,60	27,76 ± 7,29	28,43 ± 8,36	2,04 ± 0,37
3	1,82 ± 0,40	2,65 ± 0,16	24,61 ± 3,16	38,86 ± 8,19	26,71 ± 3,06	1,81 ± 1,12	1,62 ± 0,42	1,26 ± 0,31

Согласно данным таблицы 93,25% гранул состава 1 находятся в диапазоне 0,2-1,0 мм, максимум содержания приходится на фракцию 0,4-0,5 мм – 38,84%. Порядка 89,84% гранул состава 2 находятся в диапазоне 0,5-3,0 мм, максимум содержания приходится на фракцию 1,0-2,0 мм – 27,75% и фракцию 2,0-3,0 мм – 28,43%. Размер гранул состава 3 характеризуются меньшим диапазоном, 90,18% гранул распределены в диапазоне 0,4-1,0 мм, максимум содержания соответствует фракции 0,5-0,8 мм – 38,86%.

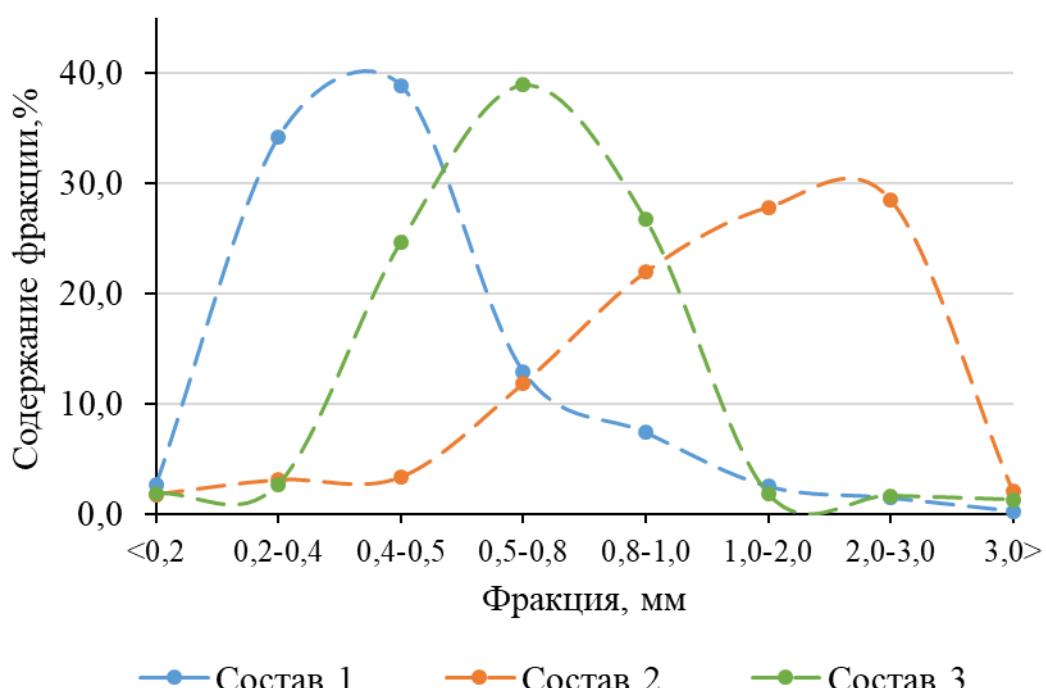


Рисунок 7.1. – Диаграмма фракционного состава исследуемых саше-гранул

Анализ диаграмм фракционного состава гранул свидетельствует о более равномерном распределении гранул состава 3 по размеру относительно доминирующей фракции, в то время как для состава 1 наблюдается фракционный сдвиг гранул в область уменьшения размера частиц, а для состава 2 в область увеличения размера гранул относительно доминирующих фракций.

Полученные результаты исследований позволяют установить нормы для оценки размера гранул в рамках технологического контроля производственного процесса: состав 1 - 0,2-1,0 мм, состав 2 - 0,5-3,0 мм, состав 3 - 0,4-1,0 мм.

На рисунках 7.2-7.4 представлены результаты исследования образцов предложенных составов комбинированных гранул гликлазида и фитосубстанции, фракции: 0,2-0,4 мм, 0,4-0,5 мм, 0,5-0,8 мм, 0,8-1,0 мм.

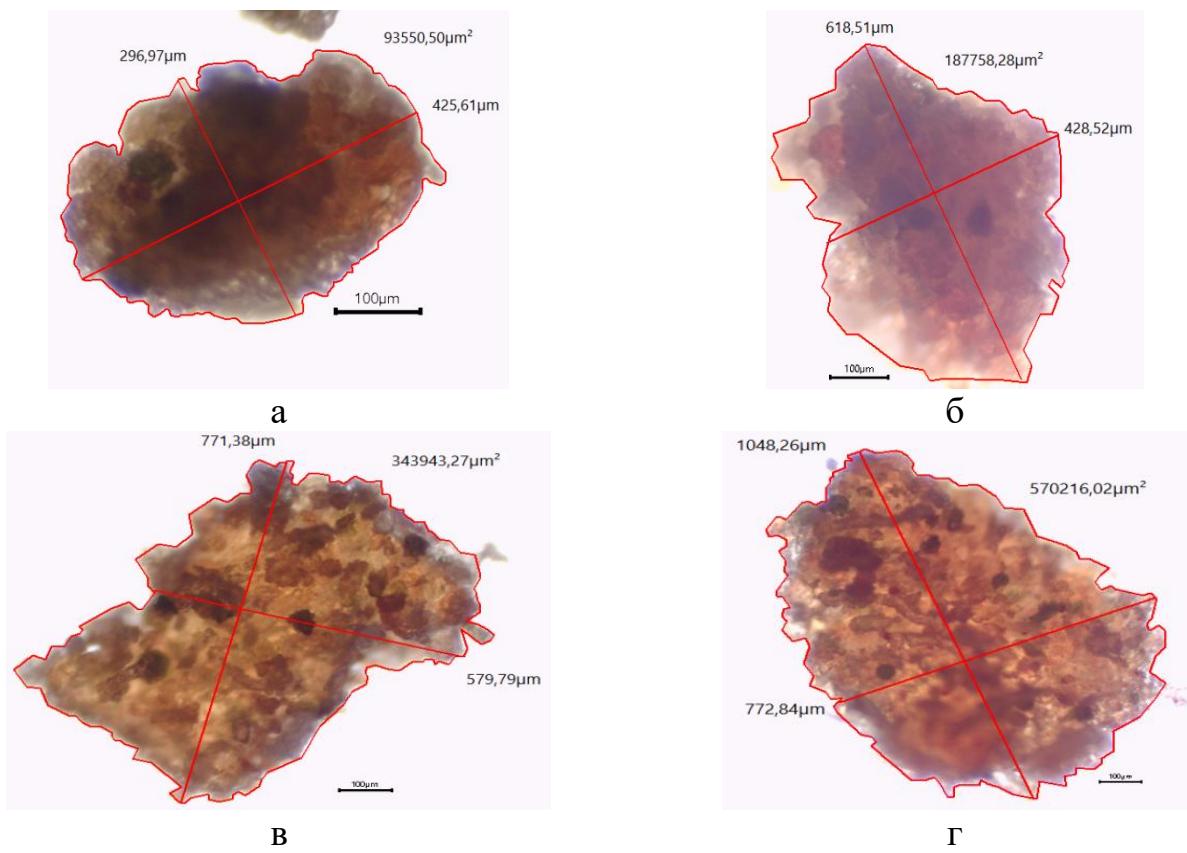


Рисунок 7.2 – Микроскопическая характеристика саше-гранул – состав 1 а – фракция 0,2-0,4 мм, б – фракция 0,4-0,5 мм, в – фракция 0,5-0,8 мм, г – фракция 0,8-1,0 мм (увеличение $\times 100$)

Гранулы состава 1 (рисунок 7.2) представляют собой окрашенные частицы вытянутой формы с шероховатой поверхностью и зазубренными краями, среднее значение эквивалентного диаметра окружности, рассчитанное по площади периметра частиц фракции 0,2-0,4 мм составляет $314,25 \pm 40,50$ мкм, средняя длина частиц $402,52 \pm 52,42$ мкм, средняя ширина $272,65 \pm 49,85$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $78681,84 \pm 20327,62$ мкм².

Среднее значение эквивалентного диаметра гранул фракции 0,4-0,5 мм составляет $493,90 \pm 19,44$ мкм, длина $616,31 \pm 40,30$ мкм, ширина составляет $471,27 \pm 44,89$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $191760,26 \pm 14897,91$ мкм².

Среднее значение эквивалентного диаметра гранул фракции 0,5-0,8 мм составляет $662,73 \pm 46,29$ мкм, длина $844,53 \pm 98,48$ мкм, ширина составляет $572,79 \pm 81,64$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $346297,08 \pm 50145,81$ мкм².

Среднее значение эквивалентного диаметра фракции 0,8-1,0 мм составляет $828,27 \pm 50,10$ мкм, длина $1018,10 \pm 72,31$ мкм, ширина составляет $762,15 \pm 75,64$ мкм среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $540310,51 \pm 64689,39$ мкм².

Гранулы состава 2 (рисунок 7.3) представляют собой окрашенные частицы неправильной формы с шероховатой поверхностью и зазубренными краями, среднее значение эквивалентного диаметра окружности, рассчитанное по площади периметра частиц фракции 0,2-0,4 мм составляет $392,00 \pm 37,10$ мкм, длина $470,20 \pm 62,07$ мкм, ширина $373,76 \pm 34,19$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $121598,18 \pm 23553,45$ мкм².

Среднее значение эквивалентного диаметра гранул фракции 0,4-0,5 мм составляет $561,14 \pm 72,29$ мкм, длина $674,04 \pm 109,49$ мкм, ширина $522,33 \pm 64,27$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $250869,37 \pm 63298,34$ мкм².

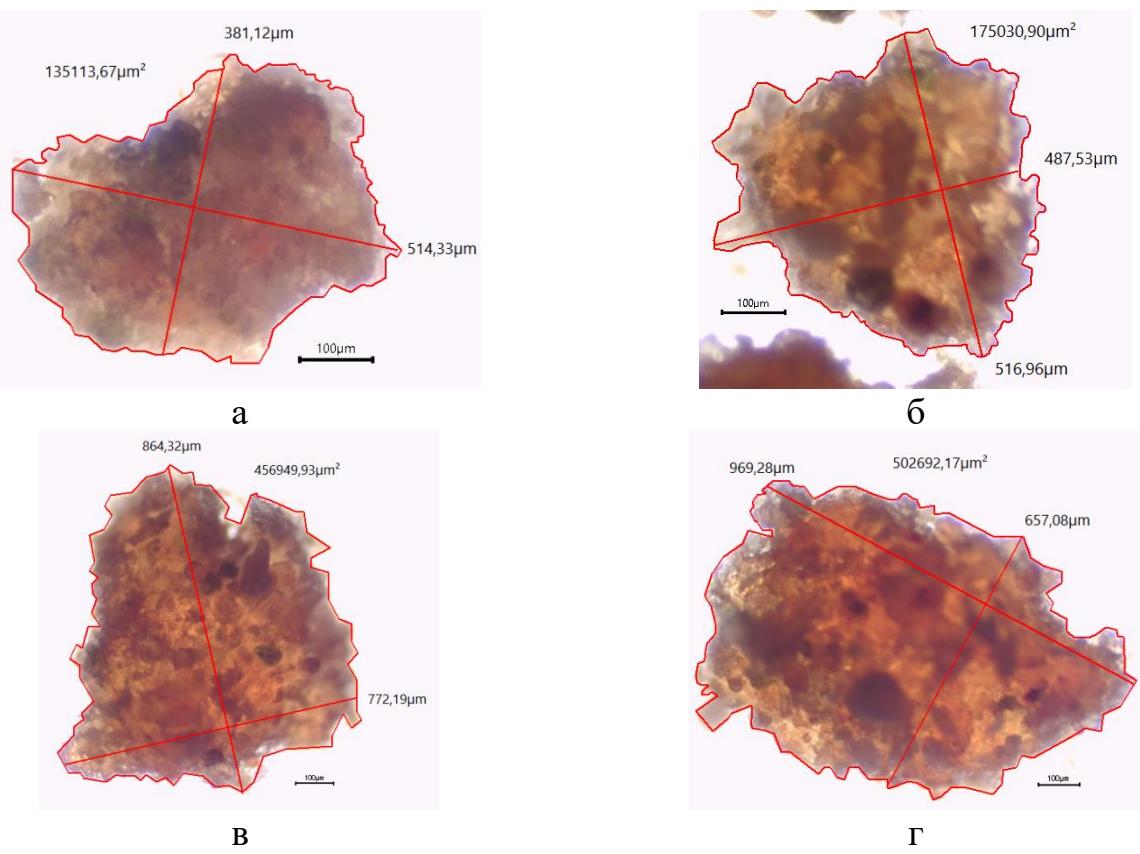


Рисунок 7.3 – Микроскопическая характеристика саше-гранул – состав 2 а – фракция 0,2-0,4 мм, б – фракция 0,4-0,5 мм, в – фракция 0,5-0,8 мм, г – фракция 0,8-1,0 мм (увеличение $\times 100$)

Среднее значение эквивалентного диаметра гранул фракции 0,5-0,8 мм составляет $731,57 \pm 36,09$ мкм, длина $885,44 \pm 61,08$ мкм, ширина составляет $658,37 \pm 95,84$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $421052,04 \pm 41542,49$ мкм².

Среднее значение эквивалентного диаметра гранул фракции 0,8-1,0 мм составляет $913,07 \pm 86,49$ мкм, длина $1099,38 \pm 109,76$ мкм, ширина $810,95 \pm 94,49$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $659739,40 \pm 128755,10$ мкм².

Гранулы состава 3 (рисунок 7.4) представляют собой окрашенные частицы неправильной формы с шероховатой поверхностью и зазубренными краями, среднее значение эквивалентного диаметра окружности, рассчитанное по площади периметра частиц фракции 0,2-0,4 мм составляет $308,14 \pm 27,15$ мкм,

длина $377,68 \pm 49,94$ мкм, ширина $296,14 \pm 25,93$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $75058,53 \pm 13023,16$ мкм².

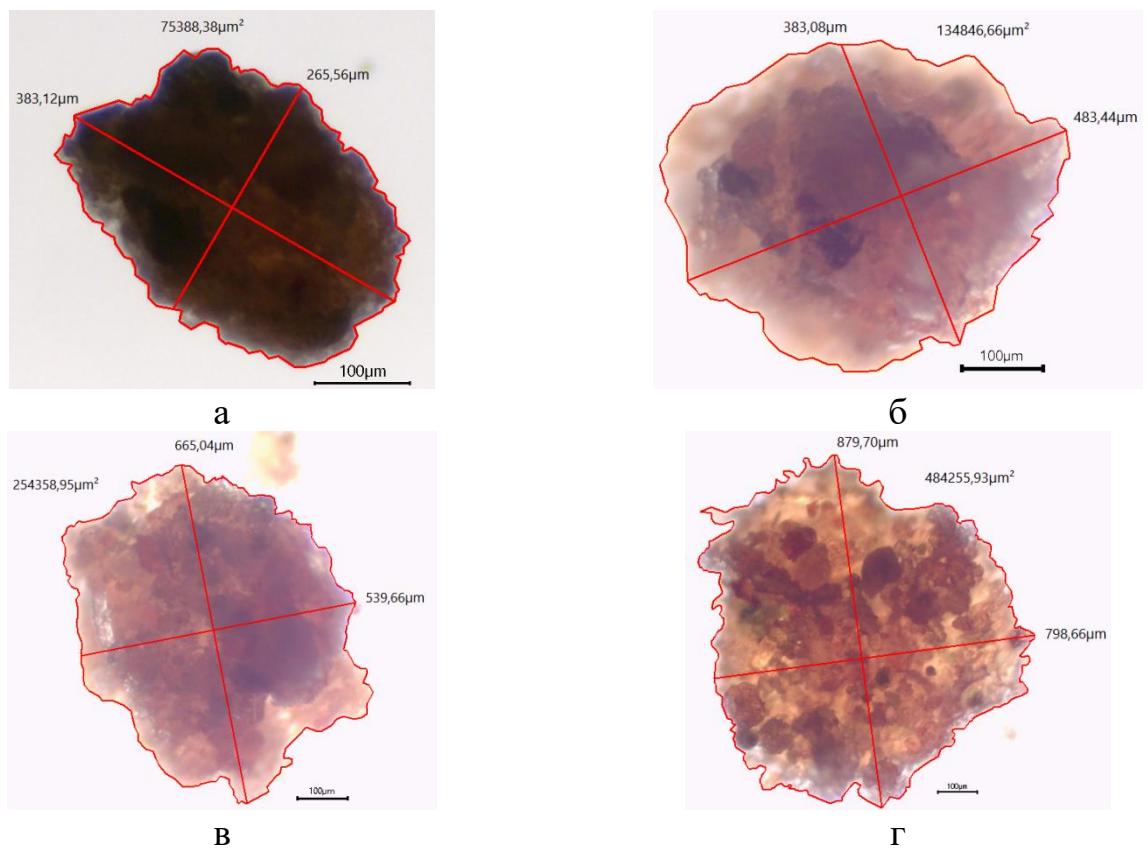


Рисунок 7.4 – Микроскопическая характеристика саше-гранул – состав 3 а – фракция 0,2-0,4 мм, б – фракция 0,4-0,5 мм, в – фракция 0,5-0,8 мм, г – фракция 0,8-1,0 мм (увеличение ×100)

Среднее значение эквивалентного диаметра гранул фракции 0,4-0,5 мм составляет $444,56 \pm 43,06$ мкм, длина $520,94 \pm 41,89$ мкм, ширина $448,29 \pm 53,80$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $156449,96 \pm 30829,93$ мкм².

Среднее значение эквивалентного диаметра гранул фракции 0,5-0,8 мм составляет $608,49 \pm 53,05$ мкм, длина $709,66 \pm 66,38$ мкм, ширина $588,69 \pm 99,40$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $292645,70 \pm 50535,82$ мкм².

Среднее значение эквивалентного диаметра гранул фракции 0,8-1,0 мм составляет $786,33 \pm 18,27$ мкм, длина $932,72 \pm 81,80$ мкм, ширина $740,19 \pm 85,34$ мкм, среднее значение площади окружности с учётом эквивалентного диаметра $485617,50 \pm 22882,34$ мкм².

Сравнительный анализ средних значений длины и ширины гранул исследуемых составов показывает наименьшую относительную разницу между указанными показателями, что может быть интерпретировано как приближение формы гранул состава 3 к сферической.

Как уже неоднократно отмечалось одним из важных показателей порошкообразных материалов, оказывающих влияние на технологический процесс и стабильность готового продукта, является гигроскопичность лекарственных форм. Учитывая, наличие в составе гранул фитосубстанции представленной сухими экстрактами, для которых характерна повышенная гигроскопичность, дальнейшие исследования были посвящены оценке данного параметра опытных образцов гранул. Анализ проводили согласно ГФ XV издания, методика описана в главе 2, влагопоглощение измеряли через 1, 6, 12 и 24 часов. Результаты определения степени гигроскопичности (увеличение массы испытуемого образца в процентах) представлены на рисунке 7.5.

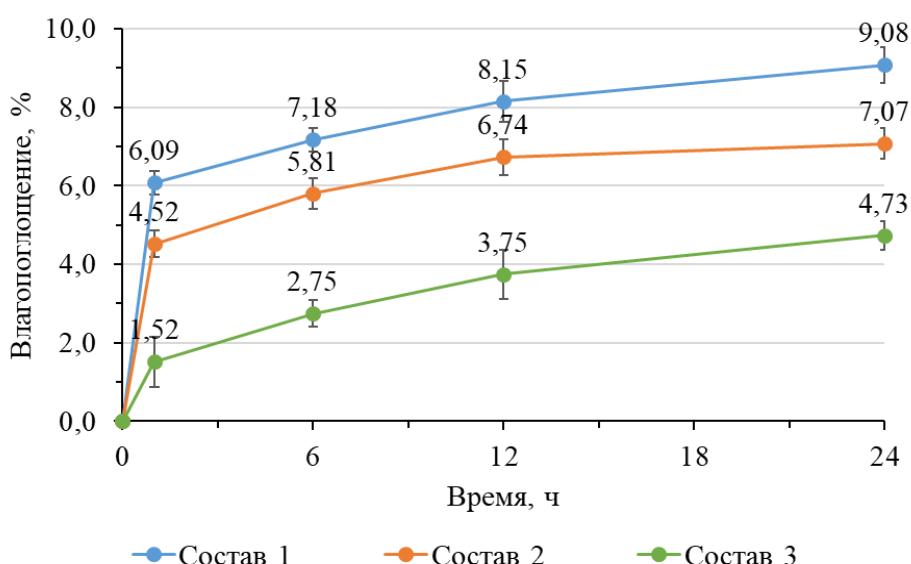


Рисунок 7.5. – Результаты определения гигроскопичности модельных образцов исследуемых составов, комбинированного саше-гранул

Средние значения ($n=6$) увеличения массы испытуемых образцов гранул, представленные на рисунке, позволяют сделать вывод, о наименьшей гигроскопичности состава 3.

Дальнейшие исследования были посвящены изучению кинетики высвобождения гликлазида из модельных образцов предложенных составов комбинированного саше в рамках оценки показателя «Растворение». Согласно Государственной фармакопеи исследование растворимости твёрдых лекарственных форм используют с целью контроля качества лекарственных препаратов, оценки постоянства состава, стабильности технологического процесса. Методика проведения исследования базировалась на методе проведения теста растворения для таблеток гликлазида согласно ОФС.3.1.0019.18 ГФ. Учитывая, что предполагаемый профиль высвобождения действующих веществ должен соответствовать профилю растворения лекарственных препаратов с обычным (не модифицированным) высвобождением, исследование проводили в течении 90 минут, отбор проб осуществляли через 15, 30, 45, 60, 75, 90 минут. Целевым показателем растворимости согласно требованию ГФ является 80% в течении 45 минут. Результаты исследования представлены на рисунке 7.6, как среднее значение испытания шести образцов саше каждого состава.

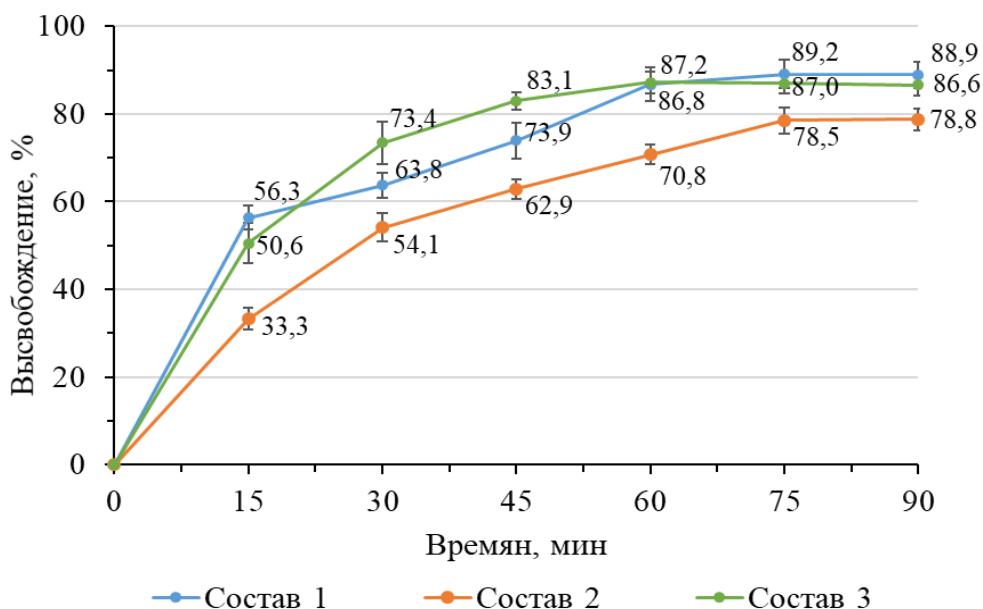


Рисунок 7.6 – Профили высвобождения гликлазида из модельных образцов комбинированного саше-гранул гликлазида и фитосубстанции

Согласно результатам проведённого анализа, через 45 минут высвобождение гликлазида из состава 1 составило $73,9 \pm 4,0\%$, из состава 2 – $62,9 \pm 2,2\%$, из состава 3 – $83,1 \pm 2,0\%$.

Таким образом комплексная оценка технологических, физико-химических и фармакокинетических характеристик позволяет определить состав 3 как наиболее оптимальный для дальнейших исследований и конструирования технологической схемы производства комбинированного саше гликлазида и фитосубстанции.

7.2 Технологическая схема получения, комбинированного саше-гранул гликлазида с фитосубстанцией

Основываясь на результатах экспериментальных исследований, предложен оптимальный состав комбинированных гранул гликлазида и фитосубстанции для производства саше при следующем содержании компонентов в г/саше и масс. %:

Гликлазид	0,06	1,6
Сухой экстракт травы галеги лекарственной	0,1	2,6
Сухой экстракт корня солодки голой	0,6	16,0
Сухой экстракт листьев мяты перечной	0,3	8,0
Пектин яблочный	2,0	53,2
Гидроксиэтилцеллюлоза	0,5	13,3
Коллидон К-30	0,2	5,3
	3,76	100,0

Технологическая схема получения разработанного состава, комбинированного саше представлена на рисунке 7.7 и включает классические стадии технологического процесса: подготовка производства и сырья, технологические стадии получения массы для гранулирования, процесс гранулирования, операции, связанные с упаковкой и маркировкой продукции.

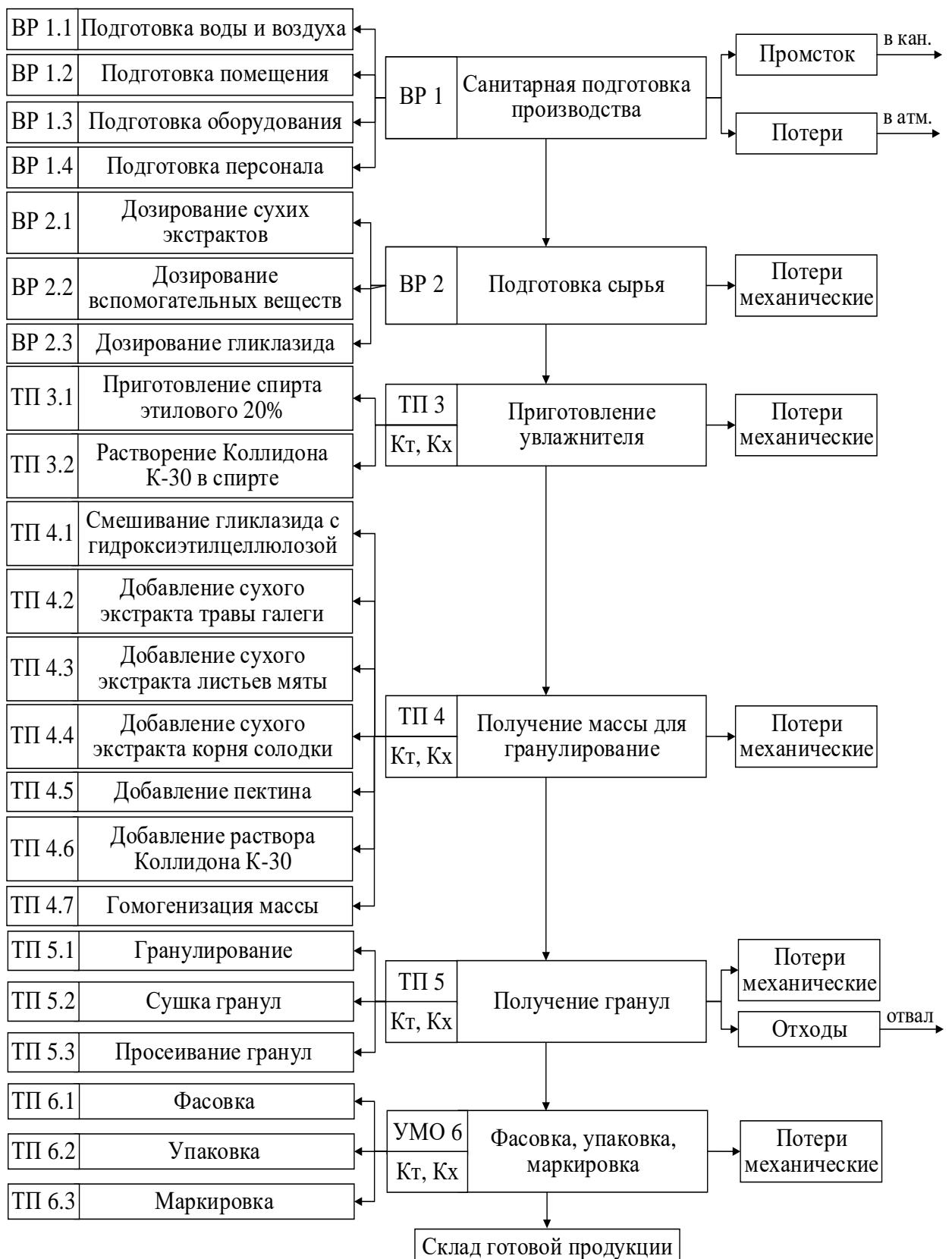


Рисунок 7.7 – Технологическая схема получения, комбинированного саше-гранул гликлазида и фитосубстанции

Дозирование сухих компонентов гранул осуществляют по массе, при необходимости дополнительно измельчают, просеивают.

Получение раствора коллидона К-30 в спирте этиловом 20%. В смеситель добавляют необходимое количество воды и спирта этилового 95%. Дозирование спирта этилового 95% можно осуществлять как по объёму, так и по массе. Далее добавляют рассчитанное количество коллидона К-30 и перемешивают до однородной массы. Технологический контроль раствора при необходимости можно проводить, проверяя плотность раствора.

Дальнейший технологический процесс связан с последовательным смешиванием компонентов гранул комбинированного саше в следующем порядке: гликлазид, гидроксиэтилцеллюлоза, сухой экстракт травы галеги лекарственной, сухой экстракт листьев мяты перечной, сухой экстракт корня солодки голой, пектин. Полученную смесь увлажняют водно-спиртовым раствором коллидона К-30, с последующим гранулированием и сушкой.

Полученные гранулы просеивают, фракции менее 0,2 мм и более 3,0 мм отправляют на переработку. Готовую продукцию подвергают фракционному анализу и контролируют остаточную влажность. Содержание целевой фракции 0,2-1,0 мм должно составлять не менее 80%, влажность не более 5%.

Готовые комбинированные гранулы фасуют в первичную упаковку, представляющую собой пакеты (саше) с последующей герметизацией путём термосваривания. В качестве материала первичной упаковки рациональнее использовать буфлен. Буфлен представляет собой четырехслойную пленку – бумага / полиэтилен / фольга / полиэтилен, которая обладает плохой газо- и паропроницаемостью что, особенно важно учитывая возможность гранул к поглощению влаги воздуха. Далее осуществляется отбраковка незаполненных первичных упаковок и нанесение маркировки. Заполненные и промаркованные саше упаковывают в картонную коробку. Готовую продукцию отправляют на склад.

На основании результатов проведённых исследований и разработанной технологической схемы можно определить ключевые стадии и критические параметры технологического процесса – таблица 7.4.

Таблица 7.4 – Критические стадии технологического процесса получения комбинированного саше гликлазида и фитосубстанции

Наименование критической стадии	Контролируемый параметр	Обоснование
ТП 4 Получение массы для гранулирования	Скорость вращения барабана смесителя, время перемешивания	Нарушение условий смещивания приведёт к потере однородности массы
ТП 5.2 Сушка гранул	Температура и время сушки	Нарушение условий ушки приведёт к ухудшению сыпучести и изменению массы гранул

7.3 Стандартизация комбинированного саше-гранул с гликлазидом и фитосубстанцией

Стандартизацию гранул комбинированного саше гликлазида и фитосубстанции проводили согласно требованиям ОФС.1.4.1.0004.18 «Гранулы» ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.1.0004 «Гранулы» ГФ XV) по показателям «Описание», «Размер гранул», «Потеря в массе при высушивании», «Однородность массы», «Однородность дозирования», «Растворимость». Определение микробиологической чистоты проводили по ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота». Согласно требованиям ГФ, разработанный лекарственный препарат должен соответствовать категории ЗА микробиологической чистоты. Оценку микробиологической чистоты проводили в рамках исследований по определению сроков годности.

Для проведения стандартизации разработанной лекарственной формы были получены опытные серии гранул. Описание: лекарственный препарат представляет собой смесь гранул коричневого цвета с характерным запахом.

Согласно требованиям ОФС «Гранулы» размер гранул должен быть в пределах 0,2-3,0 мм, при этом суммарное содержание фракций менее 0,2 мм и более 3,0 мм не должно превышать 5%, от общей массы образца. Однако, учитывая проведенные выше исследования нами были установлены дополнительные нормы данного показателя, а именно содержание целевой фракции 0,2-1,0 мм не менее 80%. Анализ размера гранул проводили, согласно ОФС, «Ситовой анализ», с учётом утвержденных норм качества. Методика изложена в главе 2. Результаты анализа опытных серий гранул представлены в таблице 7.5.

Представленные в таблице результаты свидетельствуют о соответствии наработанных серий препарата заявленным нормам по показателю «Размер гранул».

Таблица 7.5 – Результаты анализа фракционного состава образцов опытных серий, комбинированных саше-гранул гликлазида и фитосубстанции

Серия	Фракционный состав			
	< 0,2 мм	0,2-1,0 мм	1,0-3,0 мм	3,0 > мм
S1	m, г	0,384	44,815	3,962
	%	0,77	89,63	7,92
S2	m, г	0,241	47,217	1,573
	%	0,48	94,43	3,15
S3	m, г	0,533	41,828	6,368
	%	1,07	83,66	12,73
S4	m, г	0,382	42,727	5,698
	%	0,76	85,45	11,40
S5	m, г	1,021	43,862	4,049
	%	2,04	87,72	8,10
S6	m, г	0,961	45,712	2,455
	%	1,92	91,43	4,91
				1,74

Оценку опытных серий гранул по показателю «Потеря в массе при высушивании» проводили согласно ГФ, методика изложена в главе 2.

Все исследуемые серии комбинированных саше-гранул соответствуют требованиям ГФ, потеря в массе при высушивании не превышает 5%. Результаты представлены как среднее значение ± стандартное отклонение по результатам

измерения 6 образцов лекарственной формы каждой серии: S1 – $4,13 \pm 04$; S2 – $3,52 \pm 0,32$; S3 – $3,75 \pm 0,55$; S4 – $4,06 \pm 0,44$; S5 – $4,14 \pm 0,69$; S6 – $3,52 \pm 0,53$.

Оценку качества саше-гранул по показателю «Однородность массы» проводили согласно ОФС.1.4.2.0009.15 ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.2.0009 ГФ XV). Результаты испытания образцов 6 серий саше-гранул представлены в таблице 7.6.

Согласно требованиям государственной фармакопеи, допустимое отклонение индивидуальной массы гранулы без покрытия массой более 300 мг не должно превышать 7,5% от среднего значения. Результаты, представленные в таблице 7.6, позволяют сделать вывод о соответствии исследуемых образцов требованиям ГФ.

Как отмечалось ранее согласно ОФС.1.4.2.0008.18 «Однородность дозирования» ГФ XIV (соответствует ОФС.1.4.2.0008 «Однородность дозирования» ГФ XV) испытание на однородность дозирования может быть проведено двумя способами: непосредственным определением содержания действующего вещества в каждой единице лекарственной формы, либо точным определением массы лекарственной формы, соотнесенных с результатами количественного определения действующего вещества.

Первый метод является более приемлемым, поскольку позволяет провести оценку однородности дозирования лекарственного препарата с позиций количественного содержания действующего вещества в каждой дозе. Второй метод является более экономичным. Однако, учитывая содержание действующего вещества – гликлазида в количестве менее 25% от массы дозированной единицы, ГФ определяет оценку показателя «Однородность дозирования» согласно методу 1.

Результаты анализа 6 серий саше-гранул и расчёты критерия приемлемости представлены в таблице 7.7.

Таблица 7.6 – Результаты определения показателя «Однородность массы», комбинированного саше-гранул

Образец	Серия											
	S1		S2		S3		S4		S5		S6	
	m, г	s, %										
1	3,885	-2,5	3,728	0,2	4,028	-4,8	3,931	-5,8	3,516	6,7	3,713	0,4
2	3,591	5,3	3,507	6,1	3,694	3,9	3,702	0,3	3,861	-2,4	3,587	3,7
3	3,987	-5,2	3,873	-3,7	3,735	2,8	3,640	2,0	3,816	-1,2	3,482	6,5
4	3,670	3,2	3,733	0,0	3,742	2,6	3,835	-3,3	3,587	4,8	3,684	1,2
5	4,014	-5,9	3,713	0,6	3,978	-3,5	3,618	2,6	3,894	-3,3	3,489	6,3
6	4,029	-6,3	3,512	5,9	3,868	-0,7	3,713	0,0	3,577	5,1	3,825	-2,5
7	3,560	6,1	4,009	-7,4	3,771	1,8	3,708	0,2	3,887	-3,1	3,908	-4,7
8	3,789	0,0	4,010	-7,4	3,929	-2,3	3,557	4,2	3,811	-1,1	3,540	5,0
9	3,658	3,5	3,637	2,6	3,677	4,3	3,627	2,3	4,024	-6,8	3,656	1,9
10	3,716	2,0	3,879	-3,9	3,918	-2,0	3,678	1,0	3,556	5,7	3,960	-6,1
11	3,767	0,6	3,556	4,8	3,968	-3,3	3,884	-4,6	3,898	-3,4	3,603	3,3
12	3,524	7,0	3,928	-5,2	3,945	-2,7	3,753	-1,1	3,847	-2,1	3,796	-1,8
13	3,611	4,7	3,712	0,6	3,927	-2,2	3,653	1,6	3,505	7,0	3,754	-0,7
14	3,859	-1,8	3,615	3,2	3,581	6,8	3,482	6,2	3,727	1,1	3,965	-6,2
15	3,876	-2,3	3,495	6,4	3,992	-3,9	3,926	-5,7	3,600	4,5	3,902	-4,6
16	3,934	-3,8	3,552	4,9	3,666	4,6	3,680	0,9	3,994	-6,0	3,480	6,6
17	3,886	-2,5	3,538	5,2	3,951	-2,8	3,711	0,1	3,529	6,4	3,872	-3,8
18	3,777	0,3	3,894	-4,3	3,83	0,3	3,662	1,4	4,011	-6,4	3,653	2,0
19	4,015	-5,9	3,946	-5,7	3,938	-2,5	3,606	2,9	3,793	-0,6	3,751	-0,6
20	3,656	3,5	3,839	-2,8	3,701	3,7	3,905	-5,1	3,956	-5,0	3,961	-6,1
m_{cp}	3,790		3,734		3,842		3,714		3,769		3,729	

m – масса содержимого саше, г; m_{cp} – средняя масса содержимого саше, г; s – отклонение индивидуальной массы от средней массы, %.

Согласно данным, представленным в таблице 7.7, рассчитанное значение критерия приемлемости (AV) меньше максимально допустимого значения (L1), что, согласно ГФ, свидетельствует о соответствии лекарственного препарата требованиям по показателю «Однородность дозирования».

Таблица 7.7 – Результаты анализа, комбинированных саше-гранул гликлазида и фитосубстанции по показателю «Однородность дозирования»

Образец	Серия					
	S1 <i>X</i> , %	S2 <i>X</i> , %	S3 <i>X</i> , %	S4 <i>X</i> , %	S5 <i>X</i> , %	S6 <i>X</i> , %
1	103,3	98,3	103,3	96,7	96,7	91,7
2	95,0	108,3	100,0	91,7	95,0	91,7
3	93,3	105,0	95,0	101,7	103,3	96,7
4	98,3	100,0	96,7	98,3	91,7	95,0
5	101,7	101,7	93,3	90,0	100,0	100,0
6	105,0	95,0	91,7	101,7	96,7	101,7
7	98,3	100,0	98,3	103,3	91,7	91,7
8	101,7	93,3	105,0	95,0	101,7	93,3
9	96,7	95,0	90,0	93,3	105,0	101,7
10	105,0	96,7	101,7	91,7	103,3	105,0
\bar{X} , %	99,8	99,3	97,5	96,3	98,5	96,8
<i>S</i>	4,12	4,73	5,05	4,77	4,87	4,93
<i>RSD</i>	4,12	4,76	5,18	4,95	4,95	5,10
AV	9,9	11,3	13,1	13,6	11,7	13,5
L1	15,0					

X – количественное содержание гликлазида в таблетке, %; \bar{X} – среднее значение количественного содержания гликлазида в таблетках, %; *S* – стандартное отклонение от среднего значения; *RSD* – относительное стандартное отклонение;
AV – приёмлемое значение, %; L1 – максимально допустимое значение AV, %

Удовлетворительные результаты анализа шести серий, разработанных комбинированных саше-гранул гликлазида и фитосубстанции по показателям, подтверждают выбор разработанного состава как наиболее оптимального, а полученные результаты можно использовать для утверждения норм качества, разработанных комбинированных саше-гранул по перечисленным показателям.

Определение микробиологической чистоты проводили по ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота». Согласно требованиям ГФ, разработанный состав саше-гранул должен соответствовать категории 3А

микробиологической чистоты. Оценку микробиологической чистоты проводили в рамках исследований по определению сроков годности.

7.4 Фармакологические исследования разработанного состава, комбинированных саше-гранул с гликлазидом и фитосубстанцией

Определение противодиабетического действия разработанной комбинированной формы саше проводили на крысах самцах *Wistar* с аллоксан-индуцированной моделью сахарного диабета второго типа, дизайн исследования представлен на рисунке 7.8. Методика постановки аллоксанового сахарного диабета второго типа представлена в главе 2.



Рисунок 7.8 – Дизайн сравнительного исследования специфической активности разработанного состава саше

Эффективность разработанных саше-гранул изучали после однократного введения, накопительный эффект оценивали на седьмые и четырнадцатые сутки применения путём проведения теста на резистентность к пероральной глюкозе. Методика проведения теста на резистентность представлена в главе 2.

Методом парных аналогов было сформировано 3 группы животных ($n=9$) с сахарным диабетом, с концентрацией глюкозы в крови более 20 ммоль/л, также

была сформирована 4 группа интактных животных ($n=9$) без сахарного диабета с целью мониторинга физиологического уровня глюкозы. В качестве препарата сравнения использовали таблетки гликлазида с модифицированным высвобождением. Группе 1 вводили модельные образцы разработанного состава саше-гранул, расчёт дозы проводили по гликлазиду 60 мг/кг. Группе 2 вводили препарат сравнения в дозе 60 мг/кг, расчёт также проводили по гликлазиду, группе 3 вводили модельные образцы плацебо саше-гранул. Группе 4 вводили эквивалентное по объёму исследуемым препаратам количество воды очищенной. Расчёт доз проводили с учётом межвидового коэффициента пересчёта.

Результаты исследования специфической активности разработанного состава таблеток после однократного применения представлены на рисунке 7.9.

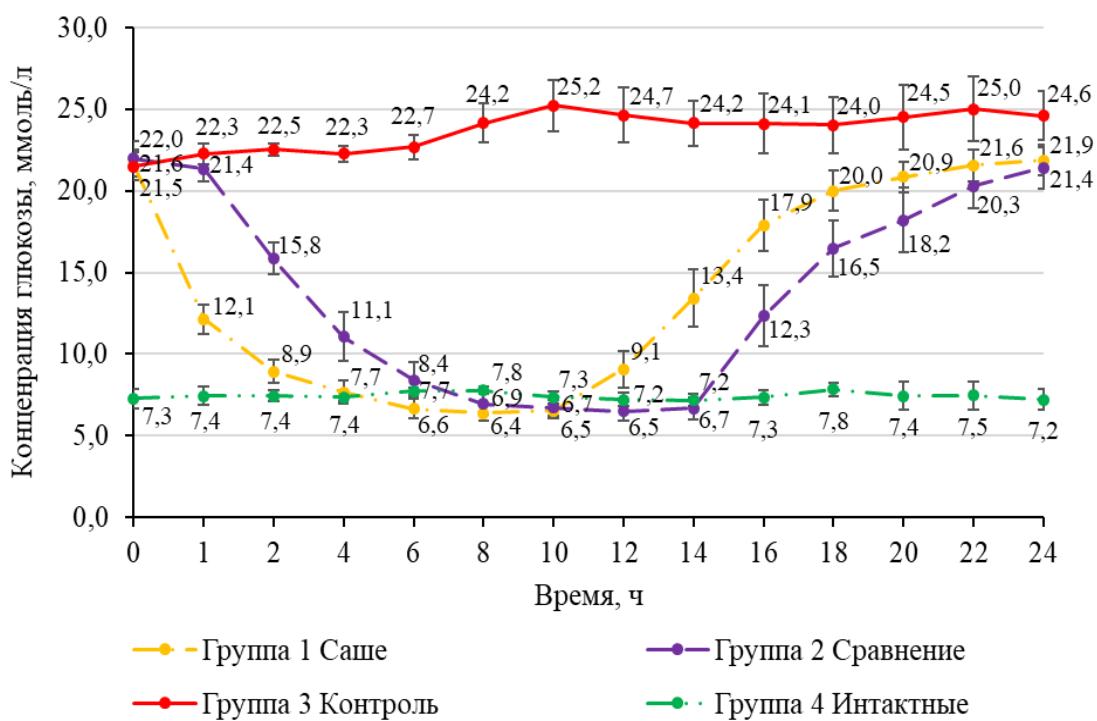


Рисунок 7.9 – Динамика изменения концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных после однократного введения препаратов

До введения препаратов средние значения концентрации глюкозы в крови животных с сахарным диабетом в сформированных группах находились на

уровне: группа 1 – $21,6 \pm 1,0$ ммоль/л; группа 2 – $22,0 \pm 1,1$ ммоль/л; группа 3 – $21,5 \pm 0,9$ ммоль/л и значимо не отличались. Концентрация глюкозы в крови интактных животных составляла $7,3 \pm 0,6$ ммоль/л.

На фоне введения разработанного состава комбинированных саше-гранул статистически значимое уменьшение (на 44%) концентрации глюкозы в крови животных (группа 1) отмечено в течение первого часа, данная тенденция сохраняется в течение первых 8 часов исследования ($p < 0,05$). Через 4 часа концентрация глюкозы в крови животных первой и четвертой группы была сопоставима, что свидетельствует о достижении физиологически приемлемого уровня гликемии, данная тенденция сохранялась в течение следующих 6 часов.

Значимое снижение концентрация глюкозы в крови животных, получающих препарат сравнения (группа 2), наблюдалось через 4 часа (на 27,9%) после однократного введения ($p < 0,05$). Через 8 часов уровень гликемии в крови животных группы сравнения был сопоставим с группой 4, данный эффект сохранялся в течение следующих 6 часов.

Уровень гликемии в крови животных контрольной группы (группа 3) находился на высоком уровне в течение всего времени исследования.

При проведении сравнительного анализа полученных результатов определения противодиабетической активности разработанного препарата и препарата сравнения следует отметить ряд аспектов.

Сахароснижающий эффект после однократного введения предложенного состава саше развивается раньше и более стремительно, в течение первых 6 часов эксперимента среднее значение концентрации глюкозы в крови животных группы 1 меньше в среднем на $34,7 \pm 10,8\%$ относительно группы сравнения. Кроме того, стоит отметить, что продолжительность поддержания нормального уровня гликемии разработанного состава комбинированных саше-гранул в крови животных группы 1 сопоставима с препаратом сравнения. Также нельзя не отметить более стремительное нарастание эффекта и менее интенсивную динамику роста концентрации глюкозы в крови животных группы 1. Через 12 часов после введения животным комбинированного состава саше-гранул,

концентрация глюкозы в крови возросла на 28,6%, в то время как через 16 часов после введения препарата сравнения наблюдается повышение глюкозы в крови животных на 45,5% от физиологически приемлемого значения ($p<0.05$).

Дальнейшие исследования были посвящены изучению накопительного действия разработанного комбинированного состава саше-гранул в тесте на резистентность к глюкозе на седьмые и четырнадцатые сутки.

На рисунке 7.10 представлены результаты проведения теста на резистентность к пероральному введению глюкозы на седьмые сутки применения разработанного препарата.

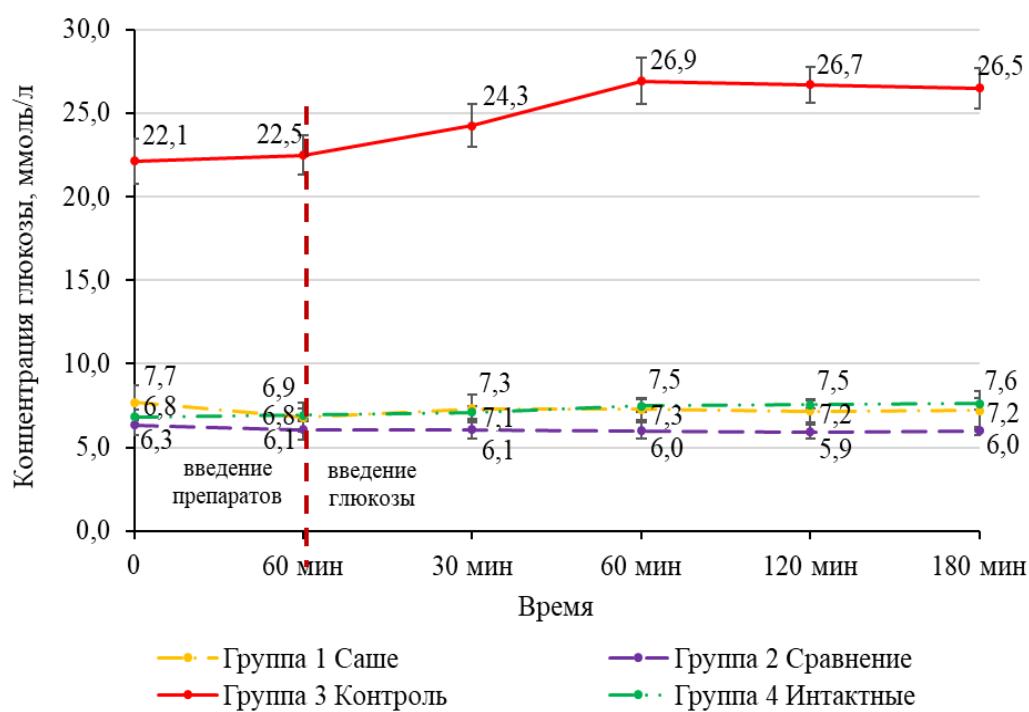


Рисунок 7.10 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (7-ые сутки)

Концентрация глюкозы в крови животных на фоне ежедневного введения разработанного препарата в течение семи дней снизилась ($p<0.05$) от первоначального уровня в группе 1 на 64,3%, в группе 2 на 71,4%, при этом уровень гликемии в группе 2 значительно меньше, чем в группе 1 ($p<0.05$). Стоит

отметить, что концентрация глюкозы в крови животных групп 1 и 2 сопоставима с группой 4 ($p>0.05$), и не превышает пределы физиологической нормы.

Через час после введения исследуемых препаратов статистически значимое уменьшение концентрации глюкозы в крови животных наблюдалось только в группе 1, при этом не выходя за границы физиологической нормы.

После перорального введения 5% раствора глюкозы в группе 1 наблюдалось незначительное повышение концентрации глюкозы в крови животных, не превышающее физиологически приемлемых значений. Уровни гликемии сопоставимы с физиологической нормой на протяжении всего времени эксперимента. В контрольной группе отмечается рост концентрации глюкозы в крови животных после перорального введения глюкозы.

На рисунке 7.11 представлены результаты проведения теста на резистентность к пероральному введению глюкозы на четырнадцатые сутки применения разработанного препарата.

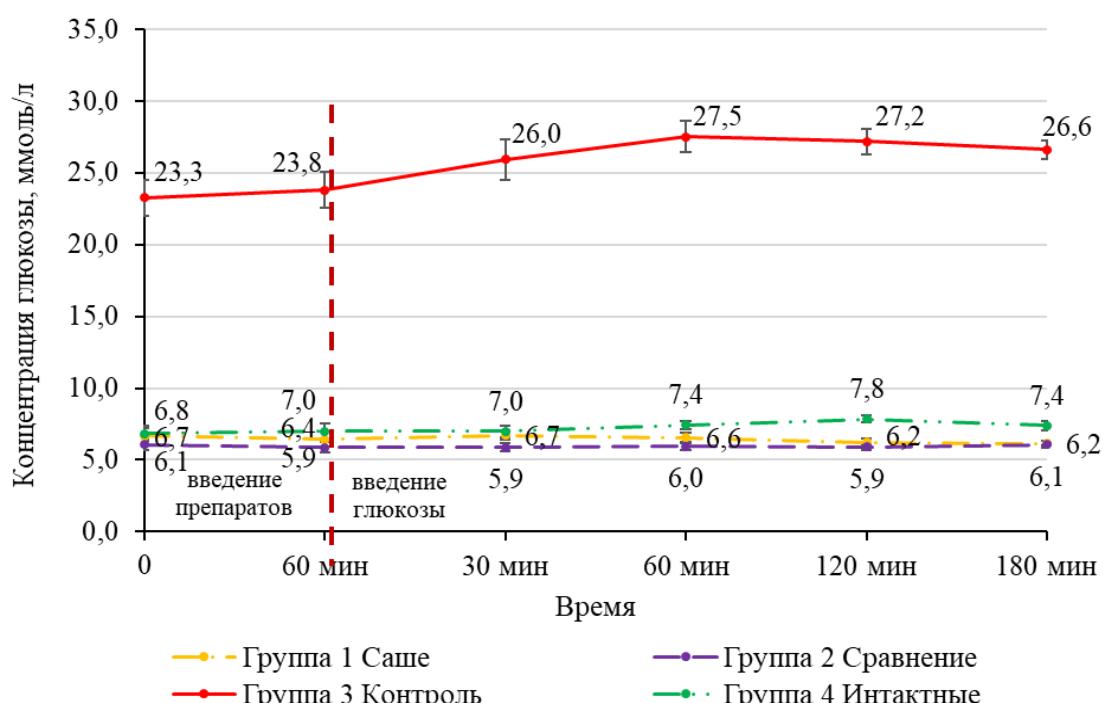


Рисунок 7.11 – Изменение концентрации глюкозы в плазме крови исследуемых групп животных при проведении теста на резистентность к глюкозе (14-ые сутки)

Концентрация глюкозы в крови животных на четырнадцатые сутки составила: в группе 1 – $6,7 \pm 0,6$ ммоль/л, в группе 2 – $6,1 \pm 0,4$ ммоль/л, в группе 3 – $23,3 \pm 1,2$ ммоль/л.

Через час после введения разработанного комбинированного препарата и препарата сравнения статистически значимое изменение концентрации глюкозы в крови животных в экспериментальных группах не наблюдалось.

После перорального введения 5% раствора глюкозы в группах 1 и 2 повышения концентрации глюкозы в крови животных также не наблюдалось. Уровни гликемии сопоставимы с физиологической нормой на протяжении всего времени эксперимента. В контрольной группе отмечается рост концентрации глюкозы в крови животных после перорального введения раствора глюкозы.

Полученные результаты сравнительного исследования специфической сахароснижающей активности комбинированного препарата гликлазида и фитосубстанции в форме саше-гранул свидетельствует о более раннем наступлении эффекта разработанного препарата по сравнению с препаратом сравнения и одинаковой продолжительностью действия. При этом следует отметить сопоставимую эффективность разработанного препарата в стабильном поддержании уровня гликемии в крови животных на физиологически значимом уровне при пероральном введении глюкозы.

7.5 Изучение стабильности и сроков годности саше-гранул

Изучение стабильности и определение сроков годности комбинированных саше-гранул гликлазида и фитосубстанции проводили в трех сериях опытных образцов. На основании ОФС.1.4.1.0004 «Гранулы», с учётом ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» (соответствует ОФС. 1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств») были сформированы ключевые показатели качества.

Анализ образцов опытных серий саше-гранул S7-S9 проводили по таким показателям, как:

- описание,
- размер гранул (фракционный состав),
- потеря в массе при высушивании,
- однородность массы (средняя масса гранул),
- однородность дозирования,
- микробиологическая чистота.

Исследования проводили согласно методикам указанным в общих фармакопейных статьях ГФ XV.

Также проводили анализ подлинности состава и количественный анализ по гликлазиду и глицирризиновой кислоте. Результаты исследования предложенного состава комбинированных саше-гранул, представленные в разделе 7.3 позволили утвердить значения показателей норм качества разработанной формы.

Результаты проведенного долгосрочного испытания стабильности и исследование сроков годности трех серий саше-гранул, представлены в таблицах 7.8-7.10. Исследуемые образцы саше-гранул соответствовали нормам качества во всех временных точках.

Рекомендуемый срок годности составляет 24 +6 месяцев.

Таблица 7.8 – Результаты определения сроков годности, комбинированного саше-гранул – серия 8 (S7)

Показатели качества	Норма	Срок хранения (месяцев)				
		6	12	18	24	30
Внешний вид (описание)	Смесь гранул коричневого цвета с характерным запахом	+	+	+	+	+
Размер гранул	Суммарное содержание фракций менее 0,5 мм и более 3,0 мм не более 5%	+	+	+	+	+
	Содержание фракции 0,2-1,0 мм не менее 80%	+	+	+	+	+
Подлинность гликлазид	объём удерживания пика на хроматограмме испытуемого раствора должен соответствовать объёму удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора гликлазида	+	+	+	+	+
Подлинность глицирризиновая кислота	1. УФ - спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при 258 нм±3 нм	+	+	+	+	+
	2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты разведенной 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора аммиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается	+	+	+	+	+
Потеря в массе при высушивании	не более 5%	+	+	+	+	+
Средняя масса саше	Соответствие требованию ОФС.1.4.2.0009. ГФ РФ XV изд. ±7,5%	+	+	+	+	+
Количественное определение гликлазид	0,06 ± 10% (0,054-0,066 г/саше)	+	+	+	+	+
Количественное определение глицирризиновая кислота	0,14 ± 10% (0,126-0,154 г/саше)	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	соответствие требованию ОФС.1.4.2.0008 ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Микробиологическая чистота	Категория 3А	+	+	+	+	+

Таблица 7.9 – Результаты определения сроков годности, комбинированного саше-гранул – серия 8 (S8)

Показатели качества	Норма	Срок хранения (месяцев)				
		6	12	18	24	30
Внешний вид (описание)	Смесь гранул коричневого цвета с характерным запахом	+	+	+	+	+
Размер гранул	Суммарное содержание фракций менее 0,5 мм и более 3,0 мм не более 5%	+	+	+	+	+
	Содержание фракции 0,2-1,0 мм не менее 80%	+	+	+	+	+
Подлинность гликлазид	объём удерживания пика на хроматограмме испытуемого раствора должен соответствовать объёму удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора гликлазида	+	+	+	+	+
Подлинность глицирризиновая кислота	1. УФ - спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при 258 нм±3 нм	+	+	+	+	+
	2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты разведенной 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора аммиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается	+	+	+	+	+
Потеря в массе при высушивании	не более 5%	+	+	+	+	+
Средняя масса саше	Соответствие требованию ОФС.1.4.2.0009. ГФ РФ XV изд. ±7,5%	+	+	+	+	+
Количественное определение гликлазид	0,06 ± 10% (0,054-0,066 г/саше)	+	+	+	+	+
Количественное определение глицирризиновая кислота	0,14 ± 10% (0,126-0,154 г/саше)	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	соответствие требованию ОФС.1.4.2.0008 ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Микробиологическая чистота	Категория 3А	+	+	+	+	+

Таблица 7.10 – Результаты определения сроков годности, комбинированного саше-гранул – серия 9 (S9)

Показатели качества	Норма	Срок хранения (месяцев)				
		6	12	18	24	30
Внешний вид (описание)	Смесь гранул коричневого цвета с характерным запахом	+	+	+	+	+
Размер гранул	Суммарное содержание фракций менее 0,5 мм и более 3,0 мм не более 5%	+	+	+	+	+
	Содержание фракции 0,2-1,0 мм не менее 80%	+	+	+	+	+
Подлинность гликлазид	объём удерживания пика на хроматограмме испытуемого раствора должен соответствовать объёму удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора гликлазида	+	+	+	+	+
Подлинность глицирризиновая кислота	1. УФ - спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при 258 нм±3 нм	+	+	+	+	+
	2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты разведенной 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора аммиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается	+	+	+	+	+
Потеря в массе при высушивании	не более 5%	+	+	+	+	+
Средняя масса саше	Соответствие требованию ОФС.1.4.2.0009. ГФ РФ XV изд. ±7,5%	+	+	+	+	+
Количественное определение гликлазид	0,06 ± 10% (0,054-0,066 г/саше)	+	+	+	+	+
Количественное определение глицирризиновая кислота	0,14 ± 10% (0,126-0,154 г/саше)	+	+	+	+	+
Однородность дозирования	соответствие требованию ОФС.1.4.2.0008 ГФ РФ XV изд.	+	+	+	+	+
Микробиологическая чистота	Категория 3А	+	+	+	+	+

Заключение по главе 7

1. Впервые разработан состав оригинальной комбинированной лекарственной формы, саше-гранул гликлазида и фитосубстанции. Изучено влияние вспомогательных веществ на фармакотехнологические свойства гранул: сыпучесть, гигроскопичность, фракционный состав. Методом оптической микроскопии оценены форма и размеры гранул с различными видами наполнителей и связующих веществ. Экспериментально установлен оптимальный состав саше-ранул с позиций кинетики высвобождения гликлазида. На основании проведенных исследований установлен оптимальный состав саше-гранул с использованием в качестве наполнителя пектина и связующей комбинации коллидона К-30 и гидроксиэтилцеллюлозы.

2. На основании результатов проведённых исследований предложена технологическая схема производства саше-гранул. Определены критические точки производственного процесса, предложены методы оценки и контроля процесса производства, комбинированных саше-гранул гликлазида и фитосубстанции. На основании результатов оценки фармакотехнологических свойств лекарственной формы предложен материал первичной упаковки препарата.

3. Проведены исследования и предложены нормы качества разработанного препарата в форме саше-гранул.

4. Проведенные фармакологические исследования подтверждают более раннее наступление антидиабетического эффекта разработанного состава оригинальных саше-гранул по сравнению с классическим препаратом сравнения и одинаковую продолжительность эффекта. Статистический анализ эффективности разработанных саше-гранул свидетельствует о сопоставимой сахароснижающей активности оригинальной формы комбинированных саше-гранул в сравнении с классической таблетированной формой гликлазида.

5. По результатам оценки долгосрочной стабильности и срока годности разработанного состава саше-гранул, определены регламентные нормы

показателей качества, в том числе и норма содержания действующих веществ, и допустимые отклонения от нормы. В рамках утвержденных норм качества срок годности лекарственного препарата составил 24 + 6 месяцев.

ГЛАВА 8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ КАЧЕСТВА ИССЛЕДУЕМЫХ ФИТОЭКСТРАКТОВ, МИКРОКАПСУЛ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА ИХ ОСНОВЕ

8.1 Определение норм качества предложенного состава фитосубстанции

Определение подлинности глицирризиновой кислоты

1. УФ-спектр раствора, приготовленного для испытания «Количественное определение», в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм, должен иметь один максимум поглощения при $258 \text{ нм} \pm 3 \text{ нм}$ (рисунок 8.1).
2. При добавлении к 2 мл препарата 1 мл серной кислоты 16% и 3 мл воды появляется опалесценция, исчезающая при добавлении 1 мл раствора аммиака 25%. Коричневая окраска раствора при этом усиливается.

Определение количественного содержания глицирризиновой кислоты

Около 2,0 г экстракта (точная навеска) или эквивалентную этому количеству экстракта точную навеску образца помещали в коническую колбу вместимостью 150 мл, прибавляли 20 мл ацетонового раствора азотной кислоты 3 % и смесь оставляли на 1 час при частом и сильном перемешивании.

Извлечение фильтровали через фильтр марки «Синяя лента» в цилиндр вместимостью 100 мл и промывали фильтр 10 мл ацетона.

В колбу с экстрактом прибавляли еще 20 мл ацетона, которым одновременно смывали частицы экстракта с фильтра и смесь кипятили с обратным холодильником на водяной бане в течение 5 мин. Извлечение фильтровали через тот же фильтр в тот же цилиндр. Экстракцию горячим ацетоном повторяли таким образом еще 2 раза, промывая ацетоном до тех пор, пока объем в цилиндре не достигнет 100 мл.

Извлечение из цилиндра выливали в стакан вместимостью 200 мл. Цилиндр ополаскивали 40 мл спирта, который затем выливали в тот же стакан. Далее по каплям при интенсивном помешивании добавляли концентрированный раствор

аммиака, до появления обильного светло-жёлтого творожистого осадка (рН 8,3 - 8,6 устанавливали потенциометрически). Осадок вместе с маточной жидкостью переносили на фильтр, помещенный в воронку Бухнера, жидкость отсасывали. Стакан и фильтр с осадком промывали 50 мл ацетона в 3 - 4 приёма. Осадок с фильтром переносили в стакан, в котором производилось осаждение и растворяли в 50 мл воды. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 250 мл. Фильтр несколько раз промывали небольшими порциями воды и присоединяли их к основному раствору. Доводили объём раствора до метки (раствор А).

3,0 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объём раствора водой до метки (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре (UV-1800 CHUMATZU – Япония) при длине волны 258 нм в кювете с толщиной слоя в 10 мм, в качестве раствора сравнения использовали воду.

Содержание глицеризиновой кислоты в абсолютно сухом сырьё и микрокапсулах в процентах(X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 822 \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{a \cdot 3 \cdot 11000 \cdot 1000}, \quad (10)$$

Для таблеток расчёт проводили с учётом средней массы, и формула 10 приобретала вид:

$$X = \frac{A \cdot 822 \cdot 250 \cdot 50 \cdot m}{a \cdot 3 \cdot 11000 \cdot 1000}, \quad (11)$$

где: A – оптическая плотность раствора Б;

a – навеска сырья, г;

m – средняя масса таблетки

822 – молекулярный вес глицеризиновой кислоты;

11000 – молярный показатель поглощения.

Метрологические характеристики методики приведены в таблице 8.1 (результаты представлены как среднее значение 6 измерений).

Таблица 8.1 – Метрологические характеристики методики определения содержания глицирризиновой кислоты в образцах

Образец	$X_{ср}$, %	ΔX , %	S	S^2	S_x	t (p,f)	P, %	ε , %
Солодки голой экстракт сухой	24,215	0,59	0,5608	0,31459	0,2290	2,57	99	2,43
Образец	$X_{ср}$, мг/доза	ΔX , мг/доза	S	S^2	S_x	t (p,f)	P, %	ε , %
Спансулы	14,66	0,41	0,3870	0,1498	0,1580	2,57	99	2,05
Таблетки	17,29	0,45	0,4254	0,1810	0,1737	2,57	99	2,56
Саше	145,22	4,23	4,0381	16,3061	1,6485	2,57	99	2,92

Содержание глицирризиновой кислоты в экстракте корня солодки голой составляет $24,215\% \pm 0,59\%$, в таблетках – $17,29 \pm 0,45$ мг, в спансуле $14,66 \pm 0,41$ мг, в саше – $145,22 \pm 4,23$ мг.

8.2 Валидация методики количественного определения

Проводилась в соответствии с требованиями ГФ РФ XV издания. Для подтверждения специфичности методики снимали спектры поглощения растворов испытуемого экстракта и комбинированных матричных таблеток (рисунок 8.2), комбинированных спансул гликлазида и микрокапсулированной фитосубстанции (рисунок 8.3) и комбинированных саше-гранул (рисунок 8.4) на его основе параллельно со спектром раствора – плацебо (рисунок 8.5).

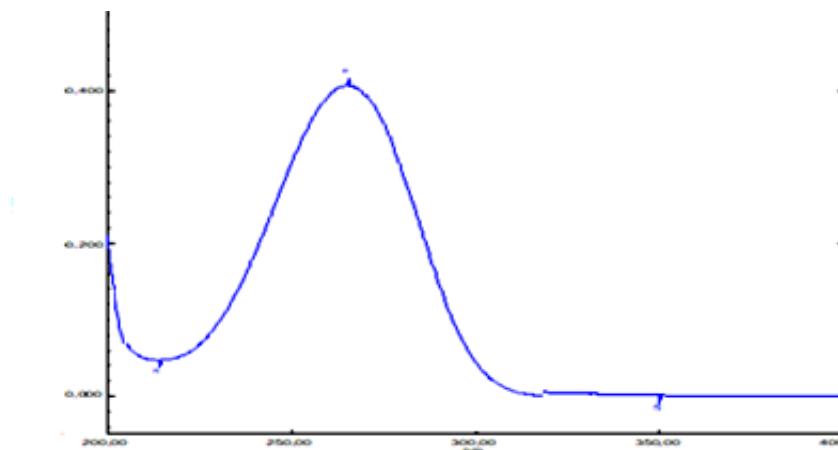


Рисунок 8.1 – УФ-спектр поглощения сухого экстракта солодки голой

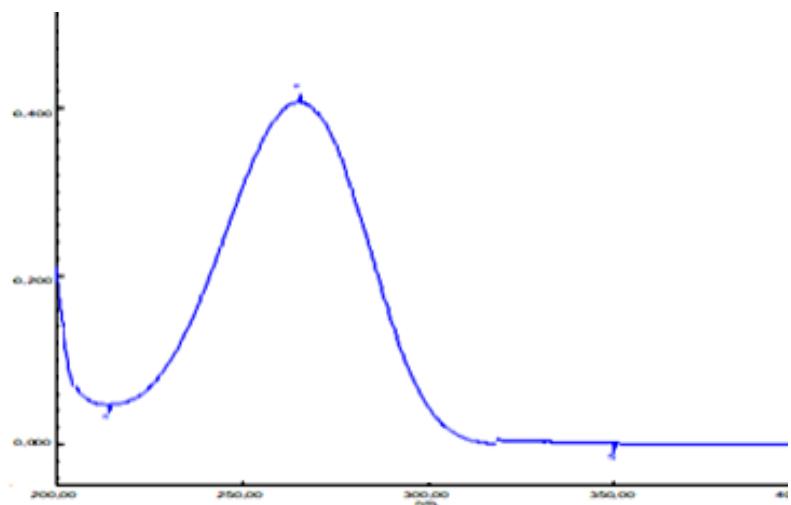


Рисунок 8.2 – УФ-спектр поглощения комбинированных таблеток фитосубстанции с гликлазидом

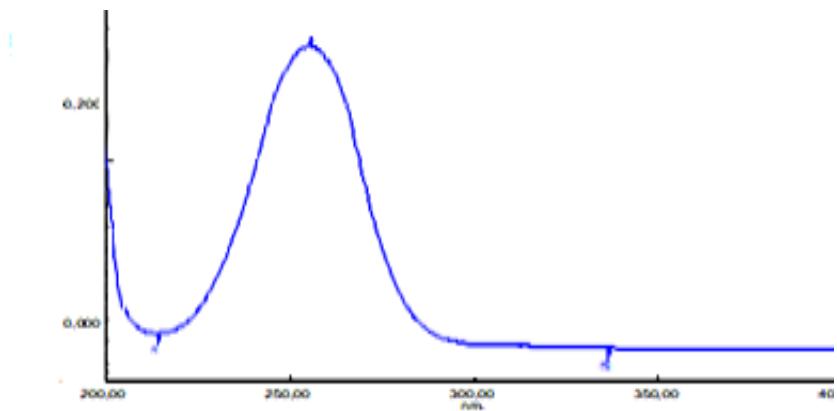


Рисунок 8.3 – УФ-спектр поглощения комбинированных спансул фитосубстанции с гликлазидом

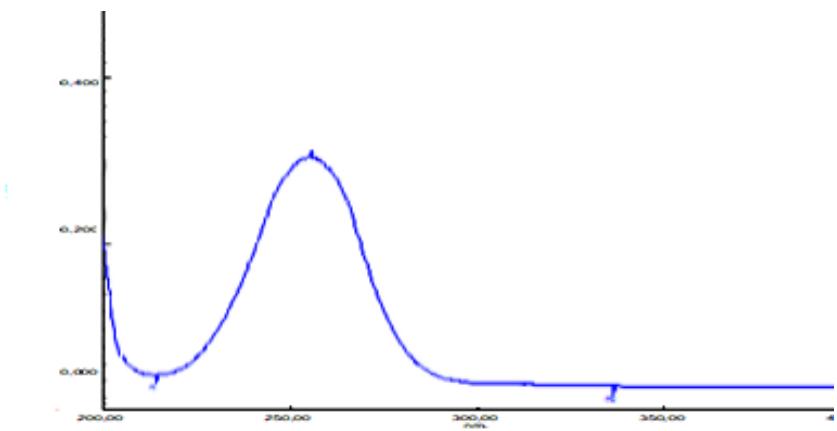


Рисунок 8.4 – УФ-спектр поглощения саше-гранул фитосубстанции с гликлазидом

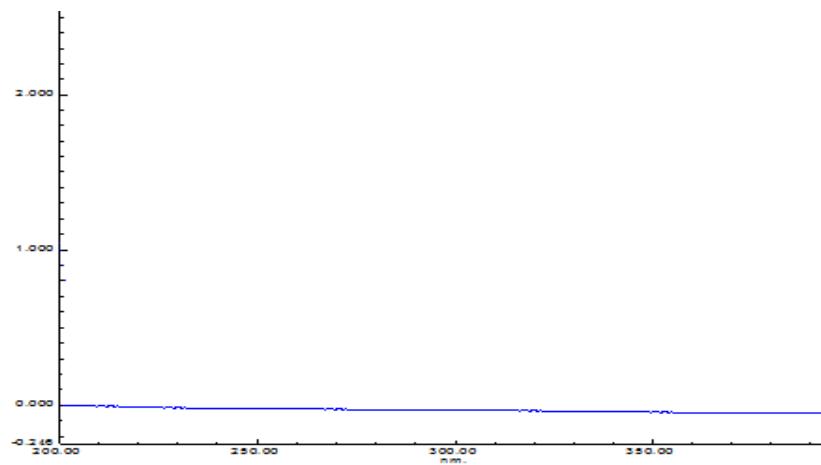


Рисунок 8.5 – УФ-спектр поглощения раствора – плацебо

Спектры поглощения испытуемых образцов имеют совпадающий максимум светопоглощения при длине волны 258 ± 2 нм, что соответствует глицирризиновой кислоте, спектр раствора – плацебо такого максимума не имеет.

Для определения прецизионности методики оценивали ее повторяемость (анализ проводился одним исполнителем, на одном и том же оборудовании, с одним и тем же набором реагентов) в пределах одного дня. Результаты представлены в таблице 8.2.

Таблица 8.2 – Прецизионность методики

№ пробы	Содержание глицирризиновой кислоты (X)	Xср	ΔX	SD	RSD, %	$\epsilon, \%$
Экстракт солодки густой, %						
1.	23,97	24,22	0,59	0,5608	2,31	2,43
2.	24,22					
3.	23,39					
4.	24,28					
5.	25,12					
6.	24,31					
Спансулы, мг/доза						
1.	14,82	14,66	0,41	0,3870	2,65	2,77
2.	15,06					
3.	14,94					
4.	14,78					
5.	14,25					
6.	14,11					

продолжение таблицы 8.2

Таблетки, мг/доза					
1.	17,19				
2.	18,02				
3.	17,77				
4.	17,28				
5.	17,37				
6.	16,83				
Саше, мг/доза					
1.	148,22				
2.	149,15				
3.	139,02				
4.	141,86				
5.	145,11				
6.	147,93				

Также оценивали внутрилабораторную (промежуточную) прецизионность валидируемой методики (анализ проводился разными исполнителями и в разные дни). Получены сопоставимые результаты – таблица 8.3.

Таблица 8.3 – Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность методики

продолжение таблицы 8.3

Спансулы, мг/доза	Аналитик №1					263,98	21,197		
	1.	14,82	14,66	0,42	0,3870	2,65			
	2.	15,06							
	3.	14,94							
	4.	14,78							
	5.	14,25							
	6.	14,11							
	Аналитик №2								
	1.	14,79	14,63	0,41	0,3941	2,45	2,56		
	2.	15,11							
	3.	14,87							
	4.	14,69							
	5.	14,22							
	6.	14,09							
Таблетки, мг/доза	Аналитик №1					117,55	21,197		
	1.	17,19	17,29	0,45	0,4254	2,45			
	2.	18,02							
	3.	17,77							
	4.	17,28							
	5.	17,37							
	6.	16,83							
	Аналитик №2								
	1.	17,21	17,45	0,41	0,391	2,24	2,35		
	2.	18,10							
	3.	17,68							
	4.	17,31							
	5.	17,42							
	6.	16,99							
Саше, мг/доза	Аналитик №1					8077,2	21,197		
	1.	148,22	145,22	4,23	4,038	2,78			
	2.	149,15							
	3.	139,02							
	4.	141,86							
	5.	145,11							
	6.	147,93							
	Аналитик №2								
	1.	148,18	145,21	4,27	4,073	2,80	2,94		
	2.	149,25							
	3.	138,99							
	4.	141,75							
	5.	145,25							
	6.	147,88							

Для подтверждения линейности методики были изготовлены 5 растворов с различными количествами экстракта: в конические колбы вместимостью 150 мл вносили 0,25; 0,50; 1,0 и 2,0 г экстракта, прибавляли 20 мл ацетонового раствора

азотной кислоты 3 % и оставляли на 1 ч при частом и сильном перемешивании. Далее растворы готовили в соответствии с методикой, описанной выше. Снимали оптическую плотность раствора в максимуме светопоглощения и строили калибровочный график (рисунок 8.6).

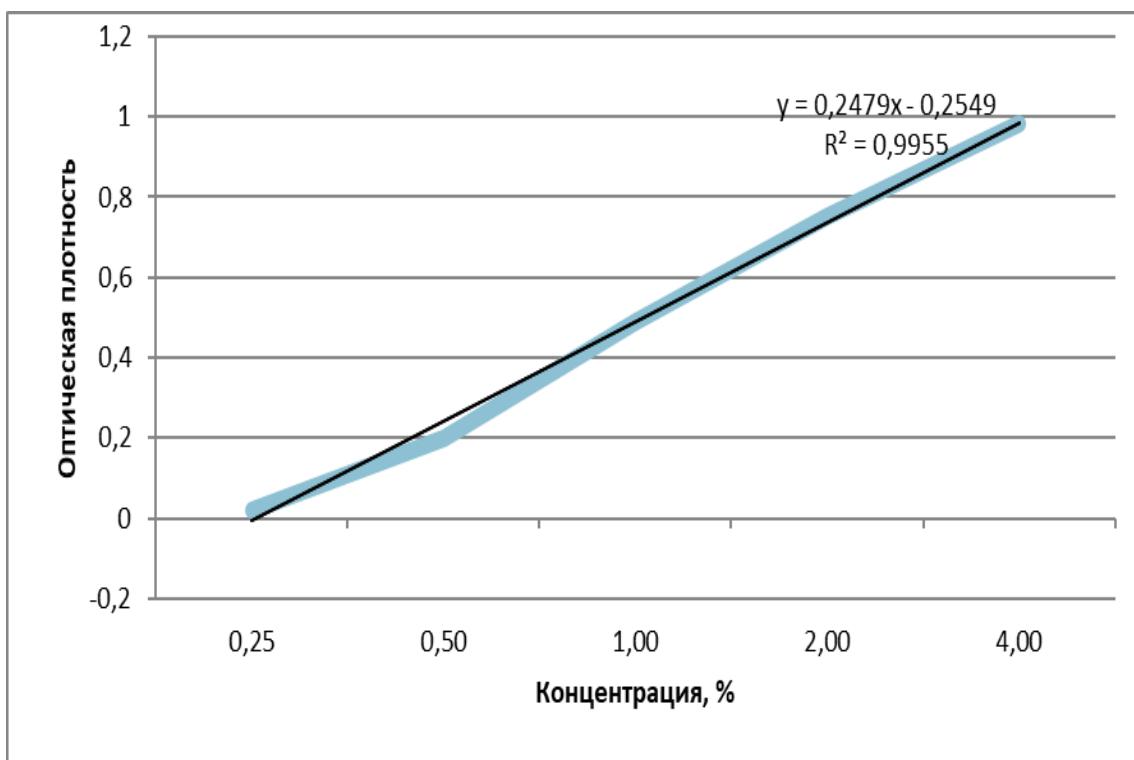


Рисунок 8.6 – Калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации экстракта солодки голой (по глицирризиновой кислоте)

Зависимость оптической плотности от концентрации экстракта носит линейный характер и может быть описана уравнением $y=0,2479x-0,22549$. Коэффициент корреляции составил 0,9955, что удовлетворяет требованиям нормативной документации.

Оценка правильности проводилась путём расчёта процента нахождения глицирризиновой кислоты в экстракте. Открываемость методики лежала в пределах от 98,82% до 100,03% при доверительном интервале Р=99%, что подтверждает правильность методики – таблица 8.4.

Таблица 8.4 – Правильность методики

Уровень концентрации	Номинальная концентрация, %	Найдено	Среднее значение	Процент открываемости
80	19,38	19,25	19,13	98,71
80	19,38	19,03		
80	19,38	19,11		
100	24,22	24,07	24,03	99,22
100	24,22	23,99		
100	24,22	24,04		
120	29,06	29,18	29,13	100,23
120	29,06	29,22		
120	29,06	28,98		

8.3 Разработка и валидация метода анализа гликлазида в предложенных лекарственных формах

Анализ выполнялся методом ВЭЖХ на хроматографе Elite classic 3200, оснащенным УФ-детектором, настроенным на длину волны 230 нм. Колонка обращенного фазового типа XBridge-Extend C18 размером 250 × 4,6 мм с размером частиц 5 мкм. Анализ проводился при комнатной температуре, что обеспечивает стабильность ретенционного времени без дополнительного терmostатирования. Для каждой инъекции использовался объём 20 мкл, что позволяет получить достаточный сигнал без риска перегрузки колонки.

Мобильная фаза готовилась в изократическом режиме: ацетонитрил смешивался в равных объемах с 0,02 М раствором дигидрофосфата калия. В мерной колбе растворяли необходимое количество КН₂РО₄ в дистиллированной воде, доводили объем до одного литра. Затем готовые растворы фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и подвергали ультразвуковой дегазации в течение 10 минут, чтобы удалить растворенные газы и исключить образование пузырьков в системе.

Калибровочная серия готовилась на основе первичного стандартного раствора концентрацией 75 мг/л. Для получения первичного раствора точно взвешивали и растворяли в этаноле заданное количество чистого стандарта гликлазида. Далее, при помощи последовательных разбавлений, готовили

стандартные растворы с концентрациями 0,5; 1,25; 5; 25; 50 и 75 мг/л. Детектирование стандартов для калибровки проводилось на длине волны 230 нм. Выстраивая зависимость площади пика от величины концентрации, рассчитывали параметры линейной регрессии — наклон, пересечение с осью и коэффициент корреляции — и применяли взвешенную регрессию для адекватного учета точности в низких концентрациях. Хроматографический режим включал изократическую элюцию с постоянным соотношением ацетонитрил/0,02 М КН₂РО₄ 40:60 при скорости потока 1,0 мл/мин.

Для подготовки образцов каждую лекарственную форму взяли таким образом, чтобы полученный экстракт имел концентрацию гликлазида, близкую к середине калибровочного диапазона (50 мг/л), что обеспечивает минимальную погрешность количественного определения.

Таблетки измельчали до тонкого порошка, после чего экстрагировали активное вещество этанолом, ориентируясь на получение конечной концентрации 50 мг/л. Экстракцию проводили с помощью ультразвука 10 мин, затем суспензию фильтровали через фильтр 0,45 мкм.

Саше-гранулы растворяли непосредственно в 50 мл этанола, встряхивали на вортексе две минуты и ультразвуком 10 минут. После 1.042 мл из этого раствора добавили в 25 мл мерной колбе и довели объём водой до метки. Полученный раствор фильтровали через фильтр 0,45 мкм.

Для образцов с полиэтиленгликолем, включая таблетки с ПЭГ и микрокапсулы, сначала отбирали навеску, эквивалентную 60 мг гликлазида, и заливали 50 мл этанола и обрабатывали ультразвуком 10 мин. После 1.042 мл из этого раствора добавили в 25 мл мерную колбу и довели объём водой до метки. Полученный раствор фильтровали через фильтр 0,45 мкм.

Все приготовленные растворы хранили при 4 °C в темноте, чтобы предотвратить возможное разложение препарата.

Оценку точности проводили как внутридневную (несколько инъекций стандартов и проб в течение одного рабочего дня), так и междневную (повторения на третий день), рассчитывая % RSD площадей пиков.

Материалы, собранные в ходе исследования, позволили провести расширенную валидацию метода на соответствие ICH и фармакопейным требованиям. Прежде всего оценена специфичность: у каждой лекарственной формы после экстракции фиксировался единственный хорошо симметричный пик на удерживании около 4,6 минуты, совпадающий со стандартом гликлазида. В хроматограммах холостых образцов, содержащих лишь вспомогательные вещества, в этой зоне отсутствовали сигналы, а спектральная чистота пика по данным УФ-сканирования превышала 99,9 %, что указывает на полное отсутствие физических или химических интерференций. Такая селективность была подтверждена наложением всех восьми хроматограмм, где пики различных матриц полностью перекрываются со стандартом – рисунок 8.7.

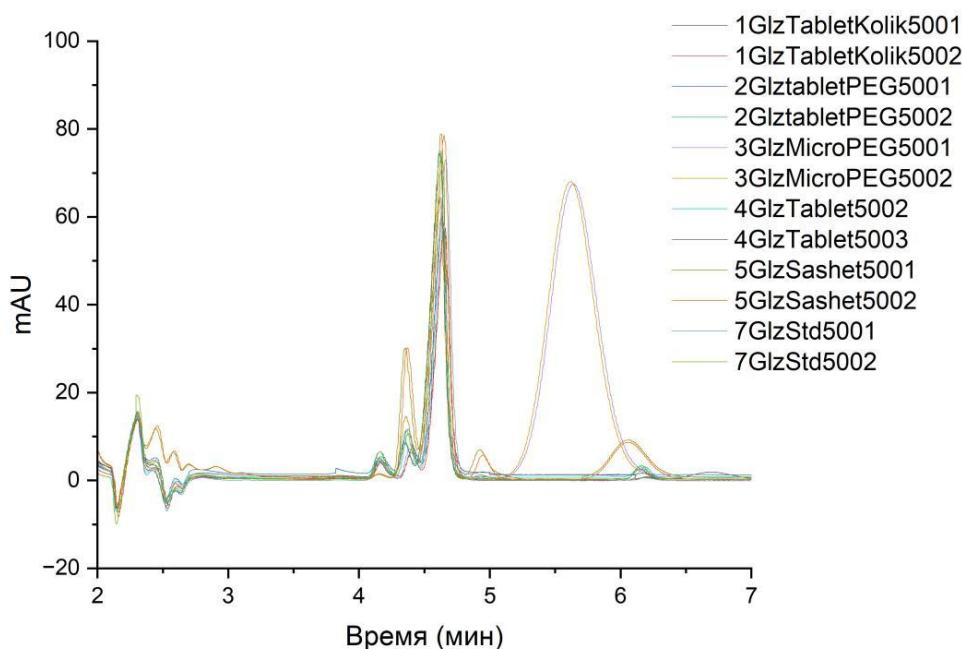


Рисунок 8.7 – Наложение хроматограмм всех образцов

Линейность проверялась в диапазоне 0,5–75 мг/л; коэффициент корреляции калибровочной прямой «площадь / концентрация» составил 0,9997, а остатки распределялись случайным образом, что демонстрирует отсутствие систематических ошибок по всему диапазону. Уравнение прямой ($S = 12,065 \text{ AU} \cdot \text{мг/л}$)

л мг^{-1} , $b = -3,68 \text{ AU}$) и низкий стандарт ошибки наклона (0,09 %) подтверждают высокую чувствительность отклика детектора. На основании стандартного отклонения остатков ($\sigma = 7,246 \text{ AU}$) рассчитаны пределы обнаружения и количественного определения: $\text{LOD} \approx 2 \text{ мг/л}$ и $\text{LOQ} \approx 6 \text{ мг/л}$. Практическая проверка через шесть инъекций контрольного раствора 2 мг/л показала соотношение сигнал / шум 3,4:1, а для 6 мг/л — 11,2:1, что согласуется с расчётами и подтверждает применимость статистического подхода – таблица 8.5.

Таблица 8.5 – Параметры линейности методики анализа гликлазида

Концентрация гликлазида (мг/л)	Площадь пика
0,5	0,8769
1,25	11,7172
5,0	58,586
25,0	302,9257
50,0	587,687
75,0	907,3585

Ниже приведен пошаговый расчёт предела обнаружения (LOD) и предела количественного определения (LOQ) на основе данных калибровки.

Исходя из рекомендованного ICH подхода « σ / наклон», при построении регрессии «площадь пика от концентрации» (диапазон 0,5–75 мг/л) получен наклон $S = 12,065 \text{ AU} \cdot \text{л} \text{мг}^{-1}$, пересечение с осью $-3,678 \text{ AU}$, и стандартное отклонение остатков $\sigma = 7,246 \text{ AU}$.

Согласно ICH LOD и LOQ считают по формуле:

$$\text{LOD} = 3,3 \times \sigma / S = (3,3 \times 7,246) / 12,065 = 1,98 \text{ мг/л};$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \sigma / S = (10 \times 7,246) / 12,065 = 6,01 \text{ мг/л};$$

Таким образом, $\text{LOD} \approx 2,0 \text{ мг/л}$ и $\text{LOQ} \approx 6,0 \text{ мг/л}$.

Прецизионность методики оценивали на концентрации 50 мг/л путём шести последовательных вводов пробы относительное стандартное отклонение площадей пиков не превысило 1,8% что ниже предельных 2% для количественных методов – таблица 8.6.

Таблица 8.6 – Параметры прецизионности методики анализа гликлазида

Пробы	Площадь пика
Стд-1	567,9412
Стд-2	567,6893
Стд-3	543,4945
Стд-4	558,6962
Стд-5	572,3737
Стд-6	552,0485
Среднее	560,3739
SD	10,09
% RSD	1,80

Рисунок 8.8 демонстрирует наложение хроматограмм стандартного раствора 50 мг/л, полученных в первый и третий дни испытаний. Оба пика совпадают по удерживанию и имеют идентичную площадь, что визуально подтверждает междневную стабильность калибровки.

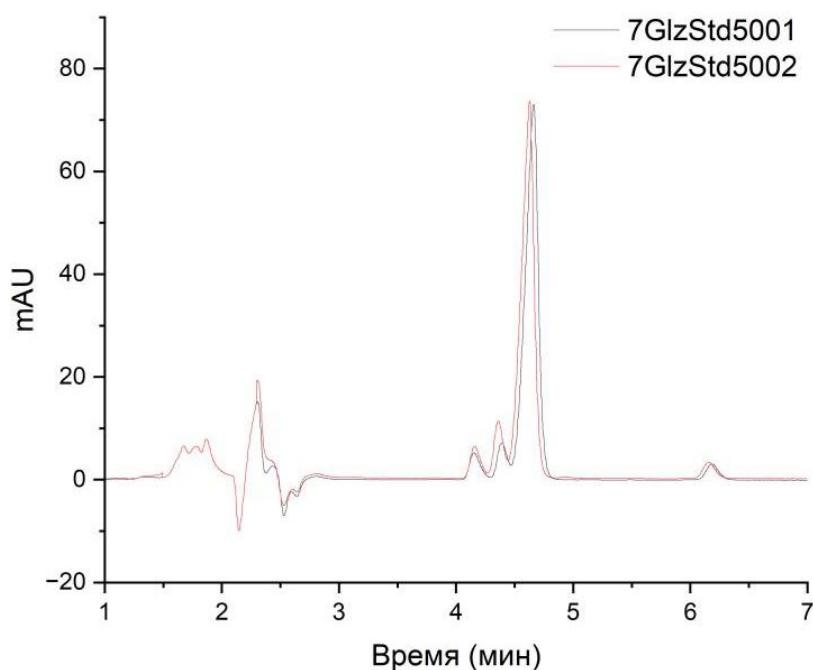


Рисунок 8.8 – Хроматограмма РСО гликлазида 50 мг/л: 7GlxStd5001 первый день и 7GlxStd5002 день третий

Рисунок 8.9 аналогичным образом показывает стандарт 25 мг/л; здесь отчетливо видно, что при меньшей концентрации наблюдается незначительное отклонение сигнала и базовой линии.

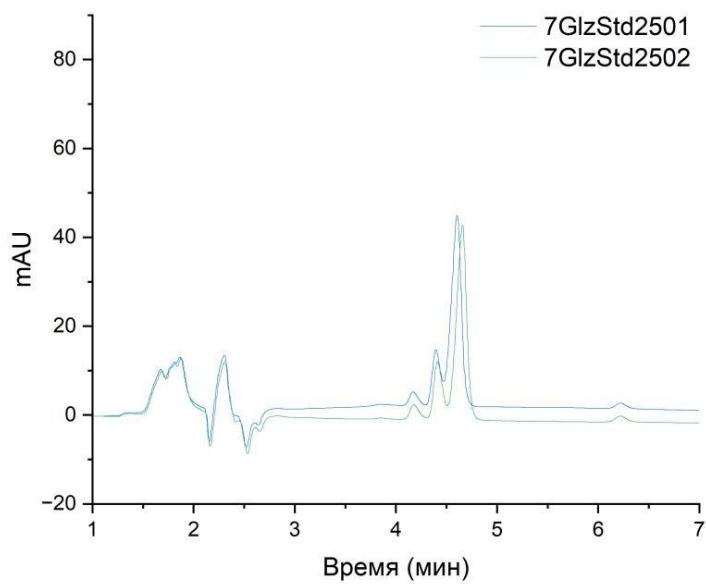


Рисунок 8.9 – Хроматограмма РСО гликлазида 25 мг/л: 7GlxStd2501 первый день и 7GlxStd2502 третий день

Рисунок 8.10 представляет образец спансул, содержащих гликлазид. На хроматограмме фиксируется единичный пик на секторе 4,6 минуты без каких-либо побочных сигналов, подтверждая полную специфичность даже в присутствии сложного наполнителя.

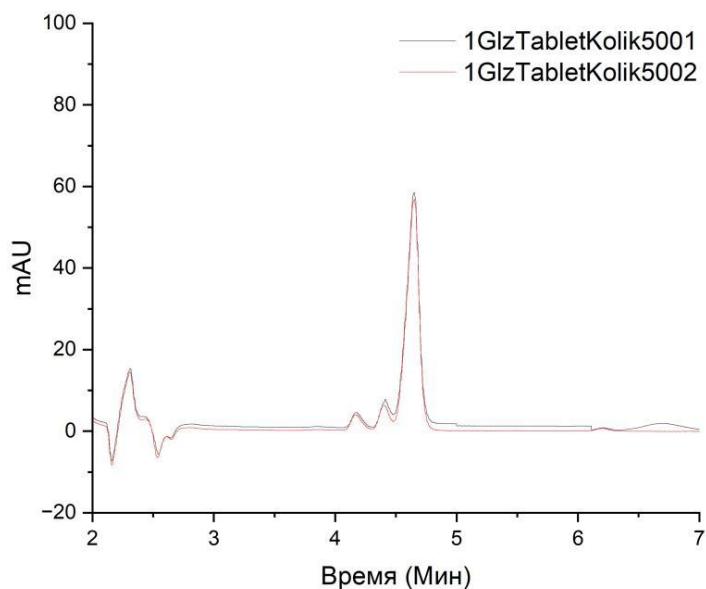


Рисунок 8.10 – Хроматограмма спансулы с гликлазидом

Рисунок 8.11 относится к порошковому саше: здесь пик гликлазида имеет такую же ширину и симметрию, а шумовые колебания базовой линии практически отсутствуют, что указывает на незначительную матричную нагрузку.

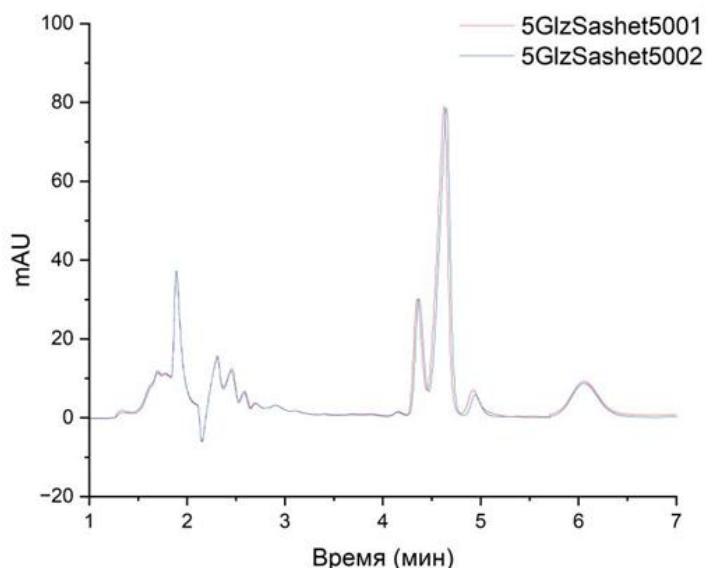


Рисунок 8.11. – Хроматограмма саше-гранул с гликлазидом

На рисунке 8.12 показана хроматограмма таблеток, где в качестве вспомогательного вещества использован полиэтиленгликоль.

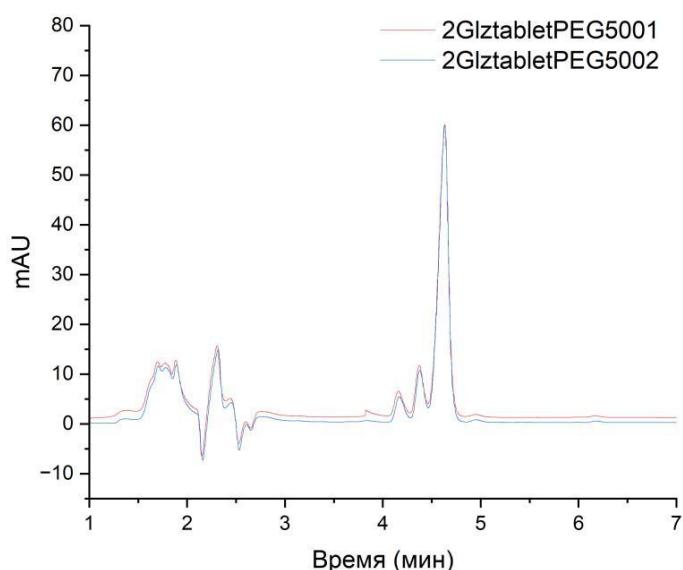


Рисунок 8.12 – Хроматограмма таблеток с гликлазидом

Пик сохраняет правильную форму, даже с учётом потенциального взаимодействия ПЭГ с поверхностью сорбента. Несмотря на это, интегрированная площадь совпадает с расчётным содержанием, поэтому метод остается количественно точным.

Рисунок 8.13 иллюстрирует микрокапсулированную форму с тем же полимерным носителем. Базовая линия четко возвращается к нулю, а начало и окончание пика хорошо различимы, что позволяет корректно провести интеграцию и количественное определение.

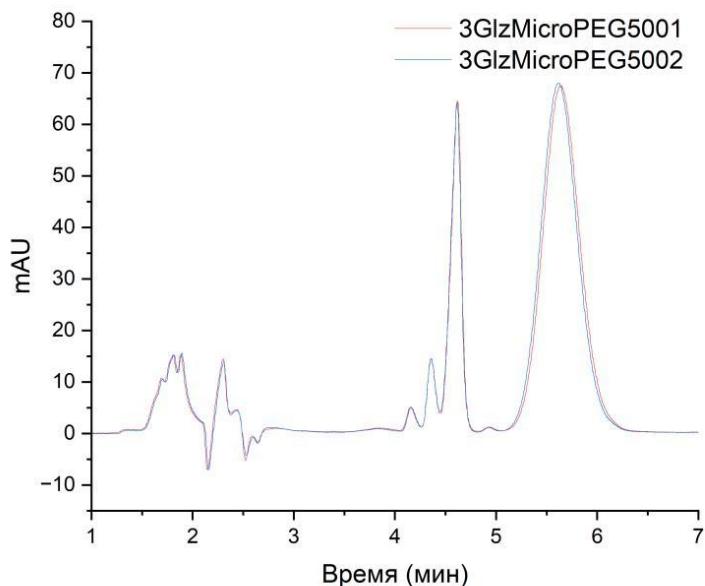


Рисунок 8.13 – Хроматограмма микрокапсул гликлазида с оболочкой из ПЭГ.

Рисунок 8.14 связан с коммерческими таблетками, маркованными 50 мг. По площади пика рассчитанная концентрация равнялась 47,38 мг/л, что эквивалентно 95 % от заявленной дозы и находится в пределах допуска 90–110 %. Полученный результат подчеркивает возможность использования метода как инструмента контроля качества разработанных лекарственных препаратов.

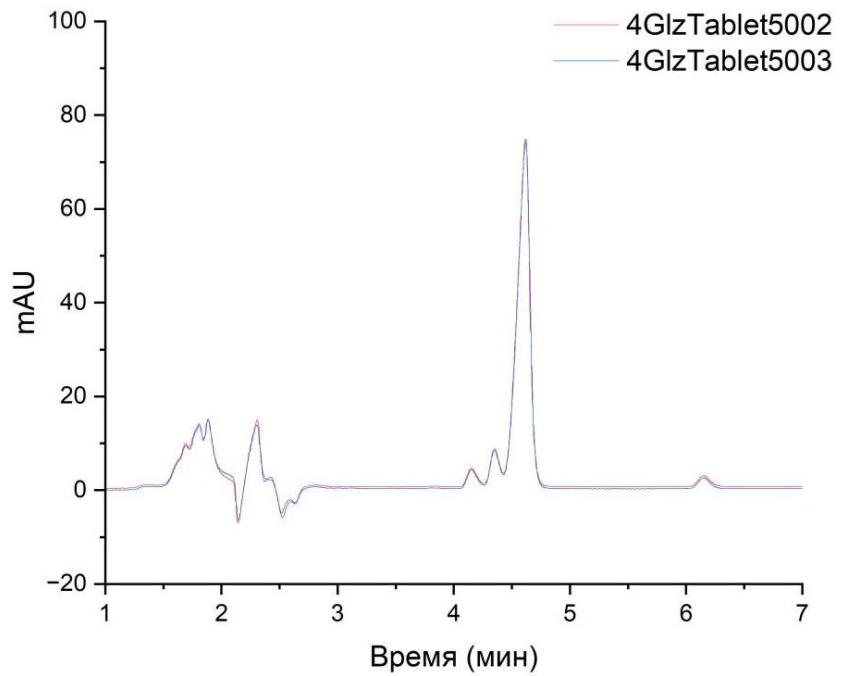


Рисунок 8.14 – Хроматограмма коммерческих таблеток гликлазида.

Заключение по главе 8

1. Разработана и валидирована методика качественного и количественного анализа фитосубстанции, содержащей растительные экстракты галеги лекарственной, солодки голой, мяты перечной методом УФ-спектрофотометрии. Разработанная аналитическая методика фитосубстанции базируется на анализе глицирризиновой кислоты, содержащейся в экстракте солодки голой, учитывая ее высокое содержание.
2. Предложены методы анализа разработанных лекарственных форм: спансулы, таблеток, саше-гранул методом УФ-спектрофотометрии, по глицирризиновой кислоте. Методы валидированы.
3. Разработана методика анализа предложенных лекарственных форм методом ВЭЖХ по гликлазиду. Проведены валидационные исследования, и подтверждена сравнительная воспроизводимость метода анализа гликлазида в разработанных составах, и коммерческом продукте, имеющемся на фармацевтическом рынке.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведена информационная разработка темы в отношении современного состояния исследований в области СД и в отношении его фармакотерапевтической обеспеченности.

2. Осуществлен выбор оптимальной комбинированной модели субстанции антидиабетической направленности, в связи с чем, выполнен поиск наиболее активных фитообъектов флоры Таджикистана.

3. Прогнозирование антидиабетической активности проведено методом молекулярного моделирования некоторых БАВ и гликлазида в отношении протеин-тирозинфасфатазы и кишечной мальто-глюкоамилазы, показана теоретическая возможность ингибиования данных ферментов с помощью БАВ, содержащихся в экстрактах анализируемых растений.

4. Предложены модельные композиции фитосубстанций и изучена их антидиабетическая активность, доказана целесообразность их комбинации с синтетическим компонентом.

5. Для формирования лекарственных форм разработано оптимальное средство добавки – микрокапсулы. Разработаны оптимальные условия микрокапсулирования. Разработана оптимальная технологическая схема процесса, проведены необходимые биофармацевтические исследования *in vitro*, позволившие сформировать окончательный состав микрокапсулируемой массы. Установлены ее фармакологические показатели.

6. На базе микрокапсулируемой массы разработана лекарственная форма спансулы, составлена интегрированная схема получения, выполнены стандартизация и фармакологические исследования, показавшие положительный специфический эффект спансул.

7. Разработаны пролонгированные таблетки на базе комбинированной субстанции, составлена технологическая схема, выполнена стандартизация таблеток, проведены фармакологические исследования, подтвердившие запланированную фармакологическую активность лекарственной формы.

8. Разработана лекарственная форма саше-гранулы. Отмечены особенности её технологии, выполнены общие исследования, показано фармакологическое преимущество. Создана и апробирована соответствующая НД на лекарственные формы и субстанцию.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

БАВ – биологически активные вещества

БМВ – большие моноламмелярные везикулы

ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения

ВР - вспомогательные работы

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГК – гликлазид

ГОСТ – государственный отраслевой стандарт

ГФ – государственная фармакопея

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЗГТ – заместительная гормональная терапия

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИЗСД – инсулинзависимый сахарный диабет

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия

ИНСД – инсулинов зависимый сахарный диабет

КВ – корригенты вкуса

КЗ – корригенты запаха

К_м – контроль микробиологический

К_т – контроль технологический

К_х – контроль химический

ЛВ – лекарственное вещество

ЛП – лекарственный препарат

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛРС – лекарственное растительное сырьё

ЛС – лекарственное средство

ЛФ – лекарственная форма

МС – метаболический синдром

НД – нормативный документ

НПВС – нестероидные противовоспалительные средства

НТГ – нарушение толерантности к глюкозе

НИОТКР – Научно исследовательские, опытно – технологические и конструкторские разработки

ОБО – обезвреживание отходов

ОСТ – отраслевой стандарт

ПАВ – поверхностно-активные вещества

ПВП – поливинилпирролидон

ПН – поверхностное натяжение

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

ПО - переработка отходов

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПЭГ – полиэтиленгликоль

ПЭО – полиэтиленоксид

РТ – Республика Таджикистан

СанПин – санитарно-эпидемиологические правила и нормативы

СД – сахарный диабет

СДС – синдром диабетическая стопа

СФ – спектрофотометр

ТИ – технологическая инструкция

ТП - технологический процесс

ТУ – технические условия

УЗ – ультразвук

УМО – упаковывание, маркировка и отгрузка готового продукта

ФСП – фармакопейная статья предприятия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каухова, И.Е. Теоретические и экспериментальные основы разработки эффективных ресурсосберегающих технологий лекарственных средств растительного происхождения: дис. ...д-ра. фармац. наук: 15.00.01/ И.Е. Каухова. - СПб, 2007. – 390 с.
2. Степанова Э.Ф., Ким М.Е., Мурзагулова К.Б., Евсеева С.Б. Микрокапсулы: перспективы использования в современной фармацевтической практике // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. ; URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?Id=14927> (дата обращения: 27.08.2022).
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А. Н. Миронова - М: Гриф и К, 2012. - ч. 1 – 944 с.
4. Xu L, Li Y, Dai Y, Peng J. Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Pharmacology and mechanisms. Pharmacol Res. 2018;130:451-465.
5. Навбахорова, Р. Р. Использование некоторых видов лекарственных растений ущелья Хуф Горного Бадахшана в народной медицине / Р. Р. Навбахорова, Д. Наврузшоев // Известия Национальной академии наук Таджикистана. Отделение биологических наук. – 2021. – № 4(215). – с. 7-12.
6. Абдуғафури, С. Аҳамиятиҳоҷагивагуногуни биологии баъзе намудҳои оилаи лабгулҳои ноҳияи флористики ҲисоруДарвоз / С. Абдуғафури // Кишоварз. – 2021. – №. 3(92). – Р. 64-68.
7. Раҳмонова, М. Ш. Лекарственные растения Дарваза и их применение в народной медицине / М. Ш. Раҳмонова // Известия Национальной академии наук Таджикистана. Отделение биологических наук. – 2022. – № 2(217). – с. 20-24.
8. Саттаров, Д. С. Биоразнообразие и ресурсы дикорастущих лекарственных растений в некоторых районах Центрального Таджикистана: специальность 03.02.14 "Биологические ресурсы": диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Саттаров Джамшед Сайдович, 2020. – 300 с.

9. Солихов, К. И. Состояние ценопопуляции солодки голой (*Glycyrrhizaglabra*) в Таджикистане / К. И. Солихов // Peasant. – 2018. – № 3. – с. 44-45.

10. Кошкина, А. В. Солодка голая. Фитохимический состав и биологические эффекты / А. В. Кошкина, Ю. О. Федотова // Орбиталь. – 2018. – № 2(3). – с. 30-51.

11. Громова, О. А. Систематический обзор экспериментальных и клинических исследований по фармакологии глицирризина и его производных / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, Н. К. Тетруашвили // Акушерство и гинекология. – 2022. – № 4. – с. 34-46.

12. Абрамчук, А. В. Биологически активный комплекс солодки голой (*Glycyrrhizaglabra* L.) / А. В. Абрамчук, М. Ю. Карпухин // Вестник биотехнологии. – 2020. – № 2(23). – с. 4.

13 Liu YY, Yang YN, Feng ZM, Jiang JS, Zhang PC. Eight new triterpenoid saponins with antioxidant activity from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. Fitoterapia. 2019; 133:186-192.

14. Дадаев, Х. А. Лекарственное растение солодка голая / Х. А. Дадаев, М. А. Садырова, Д. Х. Акилов // Биология и интегративная медицина. – 2021. – № 1(48). – с. 250-263.

15. Изучение надземной части *Glycyrrhizaglabra* в качестве перспективного сырья для производства препаратов на основе флавоноидов / М. А. Маматханова, Б. А. Абдурахманов, Б. А. Нигматуллаев [и др.] // Химия растительного сырья. – 2016. – № 1. – с. 171-176.

16. Хромато-масс-спектрометрия этанольного экстракта корней солодки голой (*Glycyrrhiza Glabra* L., семейство бобовые) / В. В. Платонов, А. А. Хадарцев, Г. Т. Сухих [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2020. – № 3. – с. 137-142.

17. Tang Y, Ou S, Ye L, Wang S. Pharmacological Activities and Pharmacokinetics of Glycycoumarin. Rev Bras Farmacogn. 2023;33(3):471-483.

18. Wahab S, Annadurai S, Abullais SS, et al. Glycyrrhiza glabra (Licorice): A Comprehensive Review on Its Phytochemistry, Biological Activities, Clinical Evidence and Toxicology. *Plants (Basel)*. 2021;10(12):2751.
19. Markina YV, Kirichenko TV, Markin AM, et al. Atheroprotective Effects of Glycyrrhiza glabra L. *Molecules*. 2022;27(15):4697. Published 2022 Jul 22.
20. Кароматов, И. Д. Солодка в лечении метаболических нарушений (обзор литературы) / И. Д. Кароматов, И. Г. Рузиева, З. III. Жураева // Биология и интегративная медицина. – 2018. – № 8(25). – с. 59-67.
21. Bai L, Li X, He L, et al. Antidiabetic Potential of Flavonoids from Traditional Chinese Medicine: A Review. *Am J Chin Med*. 2019;47(5):933-957.
22. Wang C, Chen L, Xu C, et al. A Comprehensive Review for Phytochemical, Pharmacological, and Biosynthesis Studies on Glycyrrhiza spp. *Am J Chin Med*. 2020;48(1):17-45.
23. Mae T, Kishida H, Nishiyama T, et al. A licorice ethanolic extract with peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand-binding activity affects diabetes in KK-Ay mice, abdominal obesity in diet-induced obese C57BL mice and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr*. 2003;133(11):3369-3377.
24. Yang L, Jiang Y, Zhang Z, Hou J, Tian S, Liu Y. The antidiabetic activity of licorice, a widely used Chinese herb. *J Ethnopharmacol*. 2020; 263:113216.
25. Кутовая, А. М. Галега лекарственная как перспективное растение в XXI веке / А. М. Кутовая, В. Н. Давыдова // Молодые учёные и фармация XXI века: сборник научных трудов третьей научно-практической конференции с международным участием, Москва, 15 декабря 2015 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2015. – с. 82-84.
26. Файзуллина, Р. Р. Изучение содержания флавоноидов в галеге лекарственной, культивируемой в Республике Башкортостан / Р. Р. Файзуллина, Е. Л. Шушпанова // Фармацевтическое образование, наука и практика: горизонты развития : Материалы Всероссийской научно-практической конференции с

международным участием, посвященной 50-летию фармацевтического факультета КГМУ, Курск, 20–21 октября 2016 года / Под редакцией В. А. Лазаренко, И. Л. Дроздовой, И.В. Зубковой, О.О. Куриловой. – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2016. – с. 530-533.

27. Мартынчик, И. А. Гипогликемические свойства некоторых лекарственных растений семейства бобовых (Fabaceae) / И. А. Мартынчик, Т. Е. Трумпе, А. В. Гурин // Молодые учёные и фармация XXI века: Сборник трудов шестой научной конференция с международным участием, Москва, 14 декабря 2018 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2018. – с. 271-276.

28. Разработка и экспериментальное изучение гипогликемического сбора из лекарственных растений / А. М. Кутовая, И. А. Мартынчик, Т. Е. Трумпе [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – № 4(25).

29. Биологически активные вещества галеги лекарственной (*Galega officinalis L.*) / А. Е. Палий, И. Е. Логвиненко, Л. А. Логвиненко [и др.] // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. – 2011. – Т. 133. – с. 152-159.

30. Бакун, А. С. Фитохимический анализ травы галеги лекарственной / А. С. Бакун, Н. С. Гурина // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: Сборник рецензируемых научных работ / Под редакцией А.В. Сикорского, О.К. Дорониной. Т. 7. – Минск: Белорусский государственный медицинский университет, 2017. – с. 224-227.

31. Бакун, А. С. Определение безопасности водных извлечений из травы галеги лекарственной / А. С. Бакун, Н. С. Гурина // Рецепт. – 2019. – 22, № 6. – с. 818-831.

32. Wang G.S., Hoyte C. Review of Biguanide (Metformin) Toxicity // J Intensive Care Med. – 2019. – Vol. 34. – P. 863-876.

33. Khezri M., Asghari Zakaria R., Zare N., Johari-Ahar M. Improving galegine production in transformed hairy roots of *Galega officinalis* L. via elicitation. // AMB Express. – 2022. – Vol. 12. – №1. Art. №65.
34. Hachkova H., Nagalievska M., Soliljak Z., Kanyuka O., Kucharska A.Z., Sokol-Letowska A., Belonovskaya E., Buko V., Sybirna N. Medicinal Plants *Galega officinalis* L. and Yacon Leaves as Potential Sources of Antidiabetic Drugs. // Antioxidants (Basel). – 2021. – Vol. 10. - №9. – Art. №1362.
35. Kurylo K., Budniak L., Volska A., Zablotskyy B., Klishch I. Influence of phytocompositions on dynamics of changes in basal glycemia and glycemia in oral glucose tolerance test in rats with streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes mellitus type 2 // Georgian Med News. - 2020 Vol. 3. – P. 112-116.
36. Nagalievska M., Sabadashka M., Hachkova H., Sybirna N. *Galega officinalis* extract regulate the diabetes mellitus related violations of proliferation, functions and apoptosis of leukocytes. // BMC Complement Altern Med. – 2018. Vol. 18. - №1. - Art. №4.
37. Лунева Н.Н., Закота Т.Ю., Федорова Ю.А. Распространение крапивы двудомной (*UrticadioicaL.*) и к. жгучей (*U. urens* L.) на территории Российской Федерации. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(4):144-155.
38. Кувакова, А. Р. Морфологические особенности крапивы двудомной (*Urticadioica*) в различных фитоценозах Оренбуржья / А. Р. Кувакова, Е. Э. Гусарова // Новая наука: Стратегии и векторы развития. – 2016. – № 8. – с. 3-5.
39. Темираев, Р. Б. Анализ влияния различных фитоценозов в РСО-Алания на морфологические особенности крапивы двудомной (*Urticadioica* L.) / Р. Б. Темираев, А. А. Пех // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2019. – Т. 56, № 4. – с. 208-212.
40. Koczkodaj S, Przybył JL, Kosakowska O, Węglarz Z, Bączek KB. Intraspecific Variability of Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.). Molecules. 2023;28(3):1505.

41. Карпухин, М. Ю. Использование крапивы двудомной (*Urticadioica*L.) в фитотерапии / М. Ю. Карпухин, А. А. Юрин, К. А. Чусовитина // Аграрное образование и наука. – 2019. – № 4. – с. 25.
42. Tadesse TY, Zeleke MM, Dagnew SB, Addis GT. A Systematic Review of Ethnobotanical, Phytochemical, and Ethnopharmacological Studies of *Urtica simensis* (Stinging Nettle). *J Exp Pharmacol.* 2023; 15:177-186. Published 2023 Apr 1.
43. Коломиец, Н. Э. Стандартизация листьев крапивы двудомной / Н. Э. Коломиец, Г. И. Калинкина, Н. Н. Сапронова // Фармация. – 2011. – № 6. – с. 22-24.
44. Исследование травы крапивы двудомной (*Urticadioica* L.), произрастающей в некоторых районах Европейской части России и Сибири / Н. В. Исаикина, Н. Э. Коломиец, Н. Ю. Абрамец, А. А. Марьин // Химия растительного сырья. – 2022. – № 3. – с. 127-138.
45. Тринеева, О. В. Состав метаболома крапивы двудомной, произрастающей на территории Центрального Черноземья (обзор) / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, Е. Ф. Сафонова // Химия растительного сырья. – 2022. – № 2. – с. 5-18.
46. Чернявских, В. И. Биологические ресурсы *Urticadioica* L.: направления исследований и перспективы использования / В. И. Чернявских // Полевой журнал биолога. – 2019. – Т. 1, № 3. – с. 131-149.
47. Tarasevičienė Ž, Vitkauskaitė M, Paulauskienė A, Černiauskienė J. Wild Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.) Leaves and Roots Chemical Composition and Phenols Extraction. *Plants (Basel)*. 2023;12(2):309.
48. Тринеева, О. В. Исследование микроэлементного состава листьев крапивы двудомной / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2015. – № 22(219). – с. 169-174.
49. Дьякова, Н. А. Особенности накопления макро- и микроэлементов листьями крапивы двудомной (*Urticadioica* L.) / Н. А. Дьякова // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2022. – № 2. – с. 139-147.

50. Дьякова, Н. А. Исследование минерального комплекса листьев крапивы двудомной / Н. А. Дьякова // Альманах молодой науки. – 2022. – № 3(46). – с. 34-37.
51. Taheri Y, Quispe C, Herrera-Bravo J, et al. *Urtica dioica*-Derived Phytochemicals for Pharmacological and Therapeutic Applications. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2022; 2022:4024331.
52. Татвидзе, М. Л. Исследование некоторых биологически активных веществ сухих листьев крапивы двудомной / М. Л. Татвидзе, Н. Н. Купаташвили // *Theoretical & Applied Science.* – 2018. – № 6(62). – с. 157-161.
53. Тринеева, О. В. Определение гидроксикоричных кислот, каротиноидов и хлорофилла в листьях крапивы двудомной (*UrticadioicaL.*) / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, Е. Ф. Сафонова // Химия растительного сырья. – 2015. – № 3. – с. 105-110.
54. Brahmi-Chendouh N, Piccolella S, Nigro E, et al. *Urtica dioica* L. leaf chemical composition: A never-ending disclosure by means of HR-MS/MS techniques. *J Pharm Biomed Anal.* 2021; 195:113892.
55. Durović S, Micić D, Šorgić S, et al. Recovery of Polyphenolic Compounds and Vitamins from the Stinging Nettle Leaves: Thermal and Behavior and Biological Activity of Obtained Extracts. *Molecules.* 2023;28(5):2278. Published 2023 Feb 28.
56. Semwal P, Rauf A, Olatunde A, et al. The medicinal chemistry of *Urtica dioica* L.: from preliminary evidence to clinical studies supporting its neuroprotective activity. *Nat Prod Bioprospect.* 2023;13(1):16.
57. Dhouibi R, Moalla D, Ksouda K, et al. Screening of analgesic activity of Tunisian *Urtica dioica* and analysis of its major bioactive compounds by GCMS. *Arch PhysiolBiochem.* 2018;124(4): 335-343.
58. Zamani-Garmsiri F, Akmali M, Gohari A, Zal F, Seghatoleslam A. *Urtica dioica* (Gazaneh) distillate restores glucose metabolism in diabetic rats. *Int J Prev Med.* 2023; 14:68.

59. Altamimi MA, Abu-Reidah IM, Altamimi A, Jaradat N. Hydroethanolic Extract of *Urtica dioica* L. (Stinging Nettle) Leaves as Disaccharidase Inhibitor and Glucose Transport in Caco-2 Hinderer. *Molecules*. 2022;27(24):8872.
60. Ranjbari A, Azarbayjani MA, Yusof A, et al. In vivo and in vitro evaluation of the effects of *Urtica dioica* and swimming activity on diabetic factors and pancreatic beta cells. *BMC Complement Altern Med*. 2016; 16:101.
61. Bnouham M, Merhfour FZ, Ziyyat A, Mekhfi H, Aziz M, Legssyer A. Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia*. 2003;74(7-8):677-681.
62. Pérez Gutiérrez RM, Muñiz-Ramirez A, García-Campoy AH, Mota Flores JM. Evaluation of the Antidiabetic Potential of Extracts of *Urtica dioica*, *Apium graveolens*, and *Zingiber officinale* in Mice, Zebrafish, and Pancreatic β -Cell. *Plants (Basel)*. 2021;10(7):1438. Published 2021 Jul 14.
63. Таксономия, морфология и селекция ментольных мят (обзор) / Н. И. Бочкарев, С. В. Зеленцов, Т. П. Шуваева, А. П. Бородкина // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2015. – № 2(162). – с. 106-124.
64. Мусина, А. И. Продуктивность различных видов мяты в условиях Среднего Урала / А. И. Мусина, Д. Д. Кадцына, М. Н. Полуяхтов // Молодежь и наука. – 2016. – № 1. – с. 42.
65. Казакова, В. В. Анатомо-морфологическое сравнение сортов мяты перечной (*Mentha piperita*) / В. В. Казакова, М. М. Сазоненко, В. С. Казакова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2018. – № 140. – с. 24-33.
66. Оценка качества листьев мяты перечной методом тонкослойной хроматографии в ряде объектов растительного происхождения / В. А. Сахратов, Т. Л. Малкова, Л. Н. Карпова, А. А. Поспелова // Аспирантский вестник Поволжья. – 2019. – № 5-6. – с. 148-154.

67. Пояркова, Н. М. Мята перечная (*Menthapiperita*L.) - важнейшее эфирномасличное растение / Н. М. Пояркова, В. В. Чулкова, С. Е. Сапарклычева // Вестник биотехнологии. – 2020. – № 1(22). – с. 12.
68. Караева, Л. В. Морфологический анализ разных видов мяты (*Mentha*), растущих в культуре и в условиях интродукции, в питомнике Горского ГАУ / Л. В. Караева, Л. Ч. Гагиева, Т. А. Исригова // Известия Дагестанского ГАУ. – 2023. – № 1(17). – с. 54-58.
69. Pavlić B, Teslić N, Zengin G, et al. Antioxidant and enzyme-inhibitory activity of peppermint extracts and essential oils obtained by conventional and emerging extraction techniques. *Food Chem.* 2021; 338:127724.
70. Inoue T, Sugimoto Y, Masuda H, Kamei C. Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L. *Biol Pharm Bull.* 2002;25(2):256-259.
71. Bodalska A, Kowalczyk A, Włodarczyk M, Fecka I. Analysis of Polyphenolic Composition of a Herbal Medicinal Product-Peppermint Tincture. *Molecules.* 2019;25(1):69.
72. Baliga MS, Rao S. Radioprotective potential of mint: a brief review. *J Cancer Res Ther.* 2010;6(3):255-262.
73. Rosmalena, Putri NA, Yazid F, Ambarwati NSS, Omar H, Ahmad I. Phytochemical, in vitro radical scavenging and in vivo oxidative stress analysis of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves extract. *J Adv Pharm Technol Res.* 2022;13(2):133-137.
74. Aldoghachi FEH, Noor Al-Mousawi UM, Shari FH. Antioxidant Activity of Rosmarinic Acid Extracted and Purified from *Mentha piperita*. *Arch Razi Inst.* 2021;76(5):1279-1287.
75. Yen HF, Hsieh CT, Hsieh TJ, Chang FR, Wang CK. In vitro anti-diabetic effect and chemical component analysis of 29 essential oils products. *J Food Drug Anal.* 2015;23(1):124-129.
76. Hamad Al-Mijalli S, ELsharkawy ER, Abdallah EM, et al. Determination of Volatile Compounds of *Mentha piperita* and *Lavandula multifida* and Investigation of

Their Antibacterial, Antioxidant, and Antidiabetic Properties. Evid Based Complement Alternat Med. 2022; 2022:9306251.

77. Heghes S.C., Filip L., Vostinaru O., Mogosan C., Miere D., Iuga C.A., Moldovan M. Essential Oil-Bearing Plants from Balkan Peninsula: Promising Sources for New Drug Candidates for the Prevention and Treatment of Diabetes Mellitus and Dyslipidemia. // Front Pharmacol. – 2020 - Vol. 11. – Art. №989.

78. Abdellatif S.A., Beheiry R.R., El-Mandrawy S.A.M. Peppermint essential oil alleviates hyperglycemia caused by streptozotocin- nicotinamide-induced type 2 diabetes in rats. // Biomed Pharmacother. – 2017. – Vol. 95. – P. 990-999.

79. Agawane S.B., Gupta V.S., Kulkarni M.J., Bhattacharya A.K., Koratkar S.S. Chemo-biological evaluation of antidiabetic activity of *Mentha arvensis* L. and its role in inhibition of advanced glycation end products. // J Ayurveda Integr Med. – 2019. – Vol. 10. №3. – P.166-170.

80. Сравнительная характеристика препаратов на основе плодов шиповника / Е. Е. Зотова, Е. И. Рябинина, А. Ф. Ливанова, А. Д. Сальникова // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2023. – Т. 26, № 2. – с. 101-110.

81. Horváth G, Molnár P, Radó-Turcsi E, et al. Carotenoid composition and in vitro pharmacological activity of rose hips. Acta Biochim Pol. 2012;59(1):129-132.

82. Шингисов, А. У. Исследование минерального состава и термодинамических характеристик плодов шиповника "Rosaceaejuss", культивируемой в южных регионах Казахстана / А. У. Шингисов, Э. У. Майлыбаева, З. Т. Нурсеитова // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 1-2. – с. 215-219.

83. Сергунова, Е. В. Изучение фенольных соединений плодов и лекарственных форм шиповника методом ВЭЖХ / Е. В. Сергунова, А. А. Сорокина // Фармация. – 2012. – № 5. – С. 11-13.

84. Ayati Z, Amiri MS, Ramezani M, Delshad E, Sahebkar A, Emami SA. Phytochemistry, Traditional Uses and Pharmacological Profile of Rose Hip: A Review. CurrPharmDes. 2018;24(35):4101-4124.

85. Горячева, И. П. Его Величество Шиповник - еще раз об известном в медицине (желчегонные средства в педиатрии) / И. П. Горячева // Педиатрия. Восточная Европа. – 2014. – № 2(06). – с. 131-140.
86. Кокаева, Ф. Ф. Изучение химического состава плодов шиповника (*Rosa Majalis*) / Ф. Ф. Кокаева, Д. Н. Джатиева // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2018. – Т. 55, № 1. – с. 120-124.
87. Стародуб, О. А. Изучение липидов плодов шиповников (*Rosa L*), произрастающих в разных экологических условиях / О. А. Стародуб, Л. Н. Меняйло // Вестник КрасГАУ. – 2007. – № 3. – с. 127-130.
88. Зацепина, Е. Е. Исследование репаративной активности экстракта жирного масла шиповника при моделированном ожоге у крыс / Е. Е. Зацепина, М. Н. Ивашев, А. В. Сергиенко // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 3. – с. 122-123.
89. Nagatomo A, Nishida N, Matsuura Y, Shibata N. Rose hip Extract Inhibits Lipid Accumulation in White Adipose Tissue by Suppressing the Expression of Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma. Prev Nutr Food Sci. 2013;18(2):85-91.
90. Gruenwald J, Uebelhack R, Moré MI. Rosa canina - Rose hip pharmacological ingredients and molecular mechanics counteracting osteoarthritis - A systematic review. Phytomedicine. 2019; 60:152958.
91. Fascella G, D'Angiolillo F, Mammano M. M., et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of four rose hip species from spontaneous Sicilian flora. Food Chem. 2019; 289:56-64.
92. Jemaa H B, Jemia AB, Khelifi S, et al. Antioxidant activity and α-amylase inhibitory potential of Rosa canina L. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2017;14(2):1-8.
93. Fattahi A, Niyazi F, Shahbazi B, Farzaei MH, Bahrami G. Antidiabetic Mechanisms of Rosa canina Fruits: An In Vitro Evaluation. J Evid Based Complementary Altern Med. 2017;22(1):127-133.

94. Sajadimajd S, Bahrami G, Mohammadi B, Nouri Z, Farzaei MH, Chen JT. Protective effect of the isolated oligosaccharide from Rosa canina in STZ-treated cells through modulation of the autophagy pathway [published online ahead of print, 2020 Aug 6]. J Food Biochem. 2020; e13404.
95. Bahrami G, Sajadimajd S, Mohammadi B, et al. Anti-diabetic effect of a novel oligosaccharide isolated from Rosa canina via modulation of DNA methylation in Streptozotocin-diabetic rats. Daru. 2020;28(2):581-590.
96. Bahrami G, Miraghaee SS, Mohammadi B, et al. Molecular mechanism of the anti-diabetic activity of an identified oligosaccharide from Rosa canina. Res Pharm Sci. 2020;15(1):36-47. Published 2020 Feb 20.
97. Демаков, Ю. П. Ресурсный потенциал и закономерности развития липняков Республики Марий Эл / Ю. П. Демаков, И. П. Курненкова, В. Г. Краснов // Вестник Удмуртского университета. Серия Биология. Науки о Земле. – 2016. – Т. 26, № 4. – с. 12-24.
98. Исаикина, Н. В. Изучение анатомо-морфологического строения цветков липы / Н. В. Исаикина, В. Ю. Андреева // Электронный научно-образовательный вестник Здоровье и образование в XXI веке. – 2015. – Т. 17, № 6. – с. 5-10.
99. Веселова, Д. В. Использование в современной медицине цветков липы сердцевидной / Д. В. Веселова, Э. Ф. Степанова // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, № 1. – С. 4-9.
100. Клочко, М. В. Биологическая активность и химический состав сырья липы сердцевидной и липы широколистной / М. В. Клочко, М. Н. Родин, Д. О. Боков // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. – 2022. – № 4. – С. 73-78.
101. Никулин, А. В. Микроэлементный состав лекарственного растительного сырья, содержащего полисахариды / А. В. Никулин, Е. А. Платонов, О. Г. Потанина // Фармация. – 2017. – Т. 66, № 2. – с. 24-27.
102. Дьякова, Н. А. Изучение содержания макро- и микроэлементов в цветках липы сердцевидной флоры Воронежской области / Н. А. Дьякова, А. И. Сливкин // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2022. – № 4. – с. 100-105.

103. Хусаинова, А. И. Изучение компонентного состава эфирного масла липы сердцевидной / А. И. Хусаинова, Т. К. Рязанова // Современные проблемы фармакогнозии: IV Межвузовская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета. Сборник материалов, Самара, 28 октября 2019 года / Под редакцией В.А. Куркина. – Самара: Самарский государственный медицинский университет, 2019. – с. 152-156.
104. Никитина, А. М. Сравнение компонентов эфирного масла цветков липы сердцевидной (*Tiliacordata*) и летучих веществ липового мёда / А. М. Никитина, О. В. Нестерова // ТЕОРИЯ и ПРАКТИКА СОВРЕМЕННОЙ науки : сборник статей VII Международной научно-практической конференции : в 3 ч., Пенза, 05 мая 2022 года. Т. Ч. 1. – Пенза: Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.), 2022. – с. 179-183.
105. Бирюкова, Н. В. Фармакогностический анализ и перспективы создания сиропа из лекарственного растительного сырья - листьев липы сердцевидной (*Tiliacordata Mill.*) / Н. В. Бирюкова, В. П. Бехтина // Тенденции развития науки и образования. – 2021. – № 74-1. – с. 12-20.
106. Symma N, Bütgerds M, Sendker J, et al. Novel Piperidine and 3,4-dihydro-2H-pyrrole Alkaloids from *Tiliaplatyphyllos* and *Tilia cordata* Flowers. *Planta Med.* 2021;87(9):686-700.
107. Ferreira T, Nascimento-Gonçalves E, Macedo S, et al. Toxicological and anti-tumor effects of a linden extract (*Tiliaplatyphyllos Scop.*) in a HPV16-transgenic mouse model. *Food Funct.* 2021;12(9):4005-4014.
108. Cárdenas-Rodríguez N, González-Trujano ME, Aguirre-Hernández E, et al. Anticonvulsant and antioxidant effects of *Tilia americana* var. *mexicana* and flavonoids constituents in the pentylenetetrazole-induced seizures. *Oxid Med Cell Longev.* 2014; 2014:329172.
109. Allio A, Calorio C, Franchino C, Gavello D, Carbone E, Marcantoni A. Bud extracts from *Tilia tomentosa* Moench inhibit hippocampal neuronal firing through

GABAA and benzodiazepine receptors activation.
J Ethnopharmacol. 2015; 172:288-296.

110. Turrini F, Vallarino G, Cisani F, et al. Use of an Animal Model to Evaluate Anxiolytic Effects of Dietary Supplementation with *Tilia tomentosa* Moench Bud Extracts. *Nutrients.* 2020;12(11):3328.

111. Cerantola S, Faggin S, Annaloro G, et al. Influence of *Tilia tomentosa* Moench Extract on Mouse Small Intestine Neuromuscular Contractility. *Nutrients.* 2021;13(10):3505.

112. Jabeur I, Martins N, Barros L, et al. Contribution of the phenolic composition to the antioxidant, anti-inflammatory and antitumor potential of *Equisetum giganteum* L. and *Tiliaplatyphyllos* Scop. *Food Funct.* 2017;8(3):975-984.

113. Sala A, Recio MC, Schinella GR, et al. Assessment of the anti-inflammatory activity and free radical scavenger activity of tiliroside. *Eur J Pharmacol.* 2003;461(1):53-61.

114. Goto T, Teraminami A, Lee JY, et al. Tiliroside, a glycosidic flavonoid, ameliorates obesity-induced metabolic disorders via activation of adiponectin signaling followed by enhancement of fatty acid oxidation in liver and skeletal muscle in obese-diabetic mice. *J NutrBiochem.* 2012;23(7):768-776.

115. Pieczykolan A, Pietrzak W, Nowak R, Pielczyk J, Łamacz K. Optimization of Extraction Conditions for Determination of Tiliroside in *Tilia* L. Flowers Using an LC-ESI-MS/MS Method. *J Anal Methods Chem.* 2019; 2019:9052425.

116. Rodríguez-Magaña MP, Cordero-Pérez P, Rivas-Morales C, et al. Hypoglycemic Activity of *Tilia americana*, *Borago officinalis*, *Chenopodium nuttalliae*, and *Piper sanctum* on Wistar Rats. *J Diabetes Res.* 2019; 2019:7836820.

117. Goto T, Horita M, Nagai H, et al. Tiliroside, a glycosidic flavonoid, inhibits carbohydrate digestion and glucose absorption in the gastrointestinal tract. *Mol Nutr Food Res.* 2012;56(3):435-445.

118. Hardie A, Cossins BP, Lovera S, Michel J. Deconstructing allosteric PTP1B modulators. *Commun Chem.* 2023; 6; 1: Art. 125.

119. Sun K., Ding M., Fu C., et al. Effects of dietary wild bitter melon (*Momordica charantia* var. abbreviate Ser.) extract on glucose and lipid metabolism in HFD/STZ-induced type 2 diabetic rats. // *J Ethnopharmacol.* 2023; 306:116 – 154.
120. Naz R., Saqib F., Awadallah S., et al. Food polyphenols and type II diabetes mellitus: pharmacology and mechanisms. *Molecules.* 2023;28;10: Art. 3996.
121. Akinnusi P.A., Olubode S.O., Alade A.A., et al. Potential inhibitory biomolecular interactions of natural compounds with different molecular targets of diabetes. // *Bioinform Biol Insights.* – 2023; 17:1 – 13.
122. Tannous S., Stellbrinck T., Hoter A., Naim H.Y. Interaction between the α -glucosidases, sucrase-isomaltase and maltase-glucoamylase, in human intestinal brush border membranes and its potential impact on disaccharide digestion. // *Front Mol Biosci.* 2023; 10: Art. 1160860.
123. Патент № 2782431 С1 Российская Федерация, МПК A23P 10/35. Способ инкапсуляции сухих растительных экстрактов: № 2022104153: заявл. 17.02.2022: опубл. 26.10.2022 / О. А. Семкина, М. А. Джавахян, О. М. Белошапкина [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений".
124. Патент № 2716000 С1 Российская Федерация, МПК A61K 9/50, A61K 31/4545, A61K 47/36. Способ получения альгинат-хитозановых микрокапсул с винпоцетином: № 2019135778: заявл. 06.11.2019: опубл. 05.03.2020 / Ю. А. Полковникова; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Воронежский государственный университет" (ФГБОУ ВО "ВГУ").
125. Патент № 2632304 Российская Федерация, МПК A61K 36/533, A61K 36/84, A61K 47/42. Способ получения микрокапсул седативных средств в желатине: № 2016100645: заявл. 11.01.2016: опубл. 03.10.2017 / А. А. Кролевец.

126. Патент № 2634257 Российской Федерации, МПК A61K 31/07, A61K 31/355, A61K 47/42. Способ получения микрокапсул жирорастворимых витаминов в желатине: № 2015149363: заявл. 17.11.2015: опубл. 24.10.2017 / А. А. Кролевец.

127. Влияние параметров технологического процесса на микрокапсулирование субстанций с неудовлетворительными технологическими свойствами / И. Д. Касымов, А. Л. Марченко, А. В. Басевич, М. Е. Валеева // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2023. – Т. 12, № 4. – с. 146-154.

128. Полковникова, Ю. А. Морфологические и технологические особенности микрокапсулированных форм фенибута / Ю. А. Полковникова, У. А. Тульская, Е. Е. Чупандина // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2017. – № 3. – с. 110-115.

129. Белошапкина, О. М. Разработка технологии получения микрокапсул сухого экстракта травы зюзника европейского (*Lycopuseuropaeus* L.) / О. М. Белошапкина, О. А. Семкина // Современные тенденции развития технологий здоровье сбережения: Сборник научных трудов X Международной научно-практической конференции молодых ученых, Москва, 15–16 декабря 2022 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2022. – с. 357-360.

130. Полковникова, Ю. А. Современные исследования в области микрокапсулирования (обзор) / Ю. А. Полковникова, Н. А. Ковалева // Раз-ра-бот-ка и ре-гис-тра-ция ле-карс-твен-ных средств. – 2021. – Т. 10, № 2. – с. 50-61.

131. Технологические аспекты получения микрокапсул субстанций растительного происхождения / О. А. Семкина, М. А. Джавахян, О. М. Белошапкина, А. И. Громакова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24, № 5. – с. 5-14.

132. Степанова, Э. Ф. Изучение влияния условий микрокапсулирования на физико-технологические характеристики микрокапсул афобазола / Э. Ф.

Степанова, Ю. А. Полковникова, И. Я. Куль // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 5. – с. 75-77.

133. Tomlinson B, Li YH, Chan P. Evaluating gliclazide for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Expert OpinPharmacother. 2022;23(17):1869-1877.

134. Патент № 2736081 С1 Российская Федерация, МПК A61K 9/70, A61F 13/02, A61K 31/18. Пластырь трансдермальный с гликлазидом : № 2019139343: заявл. 02.12.2019: опубл. 11.11.2020 / Э. Ф. Степанова, С. Е. Стороженко; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Волгоградский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

135. Стороженко, С. Е. Разработка состава и технологические исследования инновационных лекарственных форм на базе гипогликемического средства – гликлазида: специальность 3.4.1. диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Стороженко Сергей Евгеньевич, 2022. – 184 с.

136. Gaber DA, Alburaykan AI, Alruthaea LM, et al. Development, in vitro Evaluation, and in vivo Study of Adhesive Buccal Films for the Treatment of Diabetic Pediatrics via Trans Mucosal Delivery of Gliclazide. Drug Des Devel Ther. 2022; 16:4235-4250.

137. Prajapati SK, Tripathi P, Ubaidulla U, Anand V. Design and development of gliclazide mucoadhesive microcapsules: in vitro and in vivo evaluation. AAPS PharmSciTech. 2008;9(1):224-30.

138. Pal D, Nayak AK. Development, optimization, and anti-diabetic activity of gliclazide-loaded alginate-methyl cellulose mucoadhesive microcapsules. AAPS PharmSciTech. 2011 Dec;12(4):1431-41.

139. Демина, Н. Б. Становление и развитие биофармацевтической доктрины создания эффективных лекарственных средств / Н. Б. Демина, А. И. Бардаков, И. И. Краснюк // Фармация. – 2022. – Т. 71, № 7. – с. 5-10.

140. Демина, Н. Б. Биофармация – путь к созданию инновационных лекарственных средств / Н. Б. Демина // Раз-ра-бот-ка и ре-гис-тра-ция ле-карс-твен-ных средств. – 2013. – № 1(2). – с. 8-13.

141. Скатков, С. А. Эффективность и безопасность лекарств или чему служит биофармация / С. А. Скатков // Раз-ра-бот-ка и ре-гис-тра-ция ле-карс-твен-ных средств. – 2013. – № 1(2). – с. 14-19.
142. Сеткина, С. Б. Биофармацевтические аспекты технологии лекарственных средств и пути модификации биодоступности / С. Б. Сеткина, О. М. Хишова // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2014. – Т. 13, № 4. – с. 162-172.
143. Ким, В. Э. Биофармацевтические исследования комплексного микрокапсулированного извлечения, содержащего фитокомпозицию седативного действия / В. Э. Ким, А. Г. Курегян, Э. Ф. Степанова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – с. 1783.
144. Фармацевтическая разработка: концепция и практические рекомендации. Научно-практическое руководства для фармацевтической отрасли / ред. Быковского С.Н. – М.: Перо, 2015. – 472 с.
145. Прозорова, Н. А. Изучение влияния технологических и биофармацевтических факторов на выбор состава и технологию изготовления таблеток кеторолака / Н. А. Прозорова, Г. П. Вдовина // Успехи современной науки и образования. – 2017. - №4(9). – с. 165-170.
146. Юрьева, И. Н. Разработка состава и технологии капсул лекарственного препарата, содержащего кальций / И. Н. Юрьева, Г. П. Вдовина, И. П. Корюкина // Перм. мед. журн. – 2016. - №1(33). – с. 71-78.
147. Хишова, О. М. Современные подходы в создании лекарственных средств с модифицированным высвобождением / О. М. Хишова, Е. О. Рафалович // Рецепт. – 2018. – Т. 21, № 3. – с. 338-350.
148. Леонова, М. В. Кардиоваскулярные препараты: пероральные лекарственные формы с модифицированным высвобождением (часть I - антагонисты кальция) / М. В. Леонова // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2009. – Т. 8, № 1(45). – с. 12-20.
149. Park H, Otte A, Park K. Evolution of drug delivery systems: From 1950 to 2020 and beyond. J Control Release. 2022; 342:53-65.

150. Леонова, М. В. Кардиоваскулярные препараты: пероральные лекарственные формы с модифицированным высвобождением (часть I - антагонисты кальция) / М. В. Леонова // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2009. – Т. 8, № 1(45). – с. 12-20.
151. Szkutnik-Fiedler D, Balcerkiewicz M, Sawicki W, Grabowski T, Grześkowiak E, Mazgalski J, Urjasz H. In vitro - in vivo evaluation of a new oral dosage form of tramadol hydrochloride--controlled-release capsules filled with coated pellets. *Acta Pol Pharm.* 2014 May-Jun;71(3):469-75.
152. Saz-Leal, P., Zamorano-Domínguez, L., Frías, J. et al. Bioavailability of Cariban® Capsules: A Modified-Release Fixed-Dose Combination of Doxylamine and Pyridoxine to Relieve Nausea and Vomiting During Pregnancy. *Drugs R D* 23, 185–195
153. Ollier C, Sent U, Mesquita M, Michel M.C. Pharmacokinetics of Ambroxol Sustained Release (Mucosolvan® Retard) Compared with Other Formulations in Healthy Volunteers. *PulmTher.* 2020 Jun;6(1):119-130.
154. Siddique S, Khanam J, Bigoniya P. Development of sustained release capsules containing "coated matrix granules of metoprolol tartrate". *AAPS PharmSciTech.* 2010 Sep;11(3):1306-14.
155. Song L, He S, Ping Q. Development of a sustained-release microcapsule for delivery of metoprolol succinate. *Exp Ther Med.* 2017 May;13(5):2435-2441.
156. Вспомогательные вещества в технологии твёрдых капсул / К. В. Алексеев, Е. В. Блынская, А. С. Сульдин [и др.] // Фармация. – 2009. – № 5. – с. 31-36.
157. Кудаева, А. Ю. Производство твёрдых желатиновых капсул и их преимущества / А. Ю. Кудаева // Тенденции развития науки и образования. – 2022. – № 86-3. – с. 148-150.
158. Polski A, Iwaniak K, Kasperek R, et al. Influence of Polymer Type on the Physical Properties and Release Profile of Papaverine Hydrochloride from Hard Gelatin Capsules. *Polim Med.* 2015;45(2):51-55.

159. Гаммель, И. В. Исследование ассортимента лекарственных средств в твёрдых желатиновых капсулах / И. В. Гаммель, С. А. Горбунова // Медицинский альманах. – 2018. – № 1(52). – С. 121-125.
160. Al-Tabakha MM. HPMC capsules: current status and future prospects. *J Pharm Pharm Sci.* 2010;13(3):428-42.
161. Saleem IY, Diez F, Jones BE, Kayali N, Polo L. Investigation on the aerosol performance of dry powder inhalation hypromellose capsules with different lubricant levels. *Int J Pharm.* 2015 Aug 15;492(1-2):258-63.
162. Fu M, Blechar JA, Sauer A, Al-Gousous J, Langguth P. In Vitro Evaluation of Enteric-Coated HPMC Capsules-Effect of Formulation Factors on Product Performance. *Pharmaceutics.* 2020 Jul 23;12(8):696.
163. Ding L, Brunaugh AD, Thakkar R, Lee C, Zhao QJ, Kalafat J, Maniruzzaman M, Smyth HDC. Comparison of HPMC Inhalation-Grade Capsules and Their Effect on Aerosol Performance Using Budesonide and Rifampicin DPI Formulations. *AAPS PharmSciTech.* 2022 Jan 11;23(1):52.
164. Singh RS, Kaur N, Rana V, Kennedy JF. Pullulan: A novel molecule for biomedical applications. *CarbohydrPolym.* 2017 Sep 1; 171:102-121.
165. Ding Y, Jiang F, Chen L, Lyu W, Chi Z, Liu C, Chi Z. An Alternative Hard Capsule Prepared with the High Molecular Weight Pullulan and Gellan: Processing, Characterization, and In Vitro Drug Release. *CarbohydrPolym.* 2020 Jun 1; 237:116172.
166. RamezaniKalmer R, Karimi A, Ramezanalizadeh H, Ghanbari M, Samandarian D, Sadjadinia A, GholizadehDogaheh S, Moosavi S. Design and preparation of a novel pullulan hard capsule formulation: A promising green candidate and study of crucial capsule features. *Heliyon.* 2024 Apr 3;10(7): e28969.
167. Gullapalli RP, Mazzitelli CL. Gelatin and Non-Gelatin Capsule Dosage Forms. *J Pharm Sci.* 2017 Jun;106(6):1453-1465.
168. Vuddanda PR, Montenegro-Nicolini M, Morales JO, Velaga S. Effect of plasticizers on the physico-mechanical properties of pullulan based pharmaceutical oral films. *Eur J Pharm Sci.* 2017 Jan 1; 96:290-298.

169. Zhou K, Yang Y, Zheng B, Yu Q, Huang Y, Zhang N, Rama SM, Zhang X, Ye J, Xiao M. Enhancing Pullulan Soft Capsules with a Mixture of Glycerol and Sorbitol Plasticizers: A Multi-Dimensional Study. *Polymers (Basel)*. 2023 May 10;15(10):2247.
170. Fatmawati Adam, JuridaJamaludin, Siti Hana Abu Bakar, Ruwaida Abdul Rasid &Zulkafli Hassan | (2020) Evaluation of hard capsule application from seaweed: Gum.
171. Arabic-Kappa carrageenan biocomposite films, *Cogent Engineering*, 7:1, 1765682, DOI: 10.1080/23311916.2020.1765682.
172. Pudjiastuti, Pratiwi, Wafiroh, Siti, Hendradi, Esti, Darmokoesoemo, Handoko, Harsini, Muji, Fauzi, M. Al Rizqi Dharma, Nahar, Lutfun and Sarker, Satyajit D.. "Disintegration, In vitro Dissolution, and Drug Release Kinetics Profiles of k-Carrageenan-based Nutraceutical Hard-shell Capsules Containing Salicylamide" *Open Chemistry*, vol. 18, no. 1, 2020, pp. 226-231.
173. Li L, Ni R, Shao Y, Mao S. Carrageenan and its applications in drug delivery. *Carbohydr. Polym.* 2014;103: 1-11.
174. Guan J, Li L, Mao S. In: Venkatesan J, Anil S, Kim S-K. Application of Carrageenan in Advance Drug Delivery, in Seaweed Polysaccharide: Isolation, Biological, and Biomedical Applications, Cambridge: Elsevier Inc; 2017: 286-288 p.10.1016/B978-0-12-809816-5.00015-3.
175. Prajapati, V. D., Maheriya, P. M., Jani, G. K., & Solanki, H. K. (2014). Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydrate Polymers*, 105, 97–112.
176. Fauzi MARD, Pudjiastuti P, Wibowo AC, Hendradi E. Preparation, Properties and Potential of Carrageenan-Based Hard Capsules for Replacing Gelatine: A Review. *Polymers (Basel)*. 2021 Aug 10;13(16):2666.
177. Fauzi, Muhammad Al Rizqi Dharma, Pudjiastuti, Pratiwi, Hendradi, Esti, Widodo, Riyanto Teguh, Amin, Mohd. Cairul Iqbal Mohd., Characterization, Disintegration, and Dissolution Analyses of Carrageenan-Based Hard-Shell Capsules

Cross-Linked with Maltodextrin as a Potential Alternative Drug Delivery System, International Journal of Polymer Science, 2020, 3565931, 7 pages, 2020.

178. Место и роль гликлазида в современной фармакотерапии сахарного диабета 2-го типа / С. Е. Стороженко, О. Ф. Веселова, Т. В. Потупчик [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т. 21, № 12. – с. 15-18.

179. Мохорт, Т. В. Место препаратов сульфонилмочевины в лечении сахарного диабета 2 типа: мнение, основанное на фактических данных и практике / Т. В. Мохорт // Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал. – 2020. – № 2(72). – с. 25-33.

180. Моргунов, Л. Ю. Гликлазид МВ: очевидные преимущества / Л. Ю. Моргунов, Е. Э. Ерина // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2021. – Т. 10, № 2(35). – с. 74-81.

181. Стороженко, С. Е. Разработка состава и технологические исследования инновационных лекарственных форм на базе гипогликемического средства – гликлазида: специальность 3.4.1: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Стороженко Сергей Евгеньевич, 2022. – 184 с.

182. Тест «Растворение» в разработке и регистрации лекарственных средств. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли / Под ред. И.Е. Шохина. – М.: Перо, 2015. 320 с.

183. И.Е. Смехова, Ю.М. Перова, И.А. Кондратьева, А.Н. Родыгина, Н.Н. Турацкова. Тест «Растворение» и современные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 1 (2). с. 50–61.

184. Ofori-Kwakye K, Mfoafo KA, Kipo SL, Kuntworbe N, Boakye-Gyasi ME. Development and evaluation of natural gum-based extended-release matrix tablets of two model drugs of different water solubilities by direct compression. Saudi Pharm J. 2016 Jan;24(1):82-91.

185. Филиппова, Н. И. Матричные таблетки на основе карбомеров: регулирование высвобождения мелоксикама / Н. И. Филиппова, В. А. Вайнштейн // Фармация. – 2017. – Т. 66, № 7. – с. 22-25.
186. Oliveira PR, Mendes C, Klein L, SangoiMda S, Bernardi LS, Silva MA. Formulation development and stability studies of norfloxacin extended-release matrix tablets. *Biomed Res Int.* 2013; 2013:716736.
187. Jin X, Zhang Y, Xiao L, Zhao Z. optimization of extended zero-order release gliclazide tablets using D-optimal mixture design. *YakugakuZasshi.* 2008 Oct;128(10):1475-83.
188. Vijayalakshmi P, Devi VK, Narendra C, Srinagesh S. Development of extended zero-order release gliclazide tablets by central composite design. *Drug Dev Ind Pharm.* 2008 Jan;34(1):33-45.
189. Hussain T, Saeed T, Mumtaz AM, Javaid Z, Abbas K, Awais A, Idrees HA. Effect of two hydrophobic polymers on the release of gliclazide from their matrix tablets. *Acta Pol Pharm.* 2013 Jul-Aug;70(4):749-57.
190. Hermann TW, Dobrucki R, Piechocki S, Resztak M, Reh R. Pharmaceutical availability of gliclazide from selected matrix formulation tablets. *Med Sci Monit.* 2005 Jun;11(6):BR181-188.
191. Mandal U, Ray KK, Gowda V, Ghosh A, Pal TK. In-vitro and in-vivo correlation for two gliclazide extended-release tablets. *J Pharm Pharmacol.* 2007 Jul;59(7):971-6.
192. Resztak M, Hermann T, Sawicki W, Danielak Dz. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of gliclazide from immediate and modified release formulation tablets in rats. *Iran J Pharm Res.* 2014 Winter;13(1):29-37.
193. Kumar CS, Reddy-Budideti KK, Battula SP, Ayyavala CS. Formulation and evaluation of Ficus glomerata mucilage sustained release matrix tablets of gliclazide. *Pak J Pharm Sci.* 2011 Jul;24(3):399.
194. Zimmer Ł, Kasperek R, Poleszak E. Nowoczesnepolimery w technologii tabletek matrycowych [Modern polymers in matrix tablets technology]. *Polim Med.* 2014 Jul-Sep;44(3):189-96.

195. Abu Fara D, Dadou SM, Rashid I, Al-Obeidi R, Antonijevic MD, Chowdhry BZ, Badwan A. A Direct Compression Matrix Made from Xanthan Gum and Low Molecular Weight Chitosan Designed to Improve Compressibility in Controlled Release Tablets. *Pharmaceutics.* 2019 Nov 12;11(11):603.
196. Касымов, И. Д. Изучение технологических свойств вспомогательных веществ при разработке состава орально диспергируемых таблеток / И. Д. Касымов, А. В. Басевич // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10, № S4. – с. 46-53.
197. Технология комбинированных таблеток кислоты ацетилсалициловой / А. В. Симонян, А. А. Саламатов, М. А. Симонян [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – № 1(14). – с. 24-29.
198. Baviskar D, Sharma R, Jain D. Modulation of drug release by utilizing pH-independent matrix system comprising water soluble drug verapamil hydrochloride. *Pak J Pharm Sci.* 2013 Jan;26(1):137-44.
199. Mathur V, Nagpal K, Singh SK, Mishra DN. Comparative release profile of sustained release matrix tablets of verapamil HCl. *Int J Pharm Investig.* 2013 Jan;3(1):60-5.
200. Мурашкина, И. А. Современные вспомогательные вещества, применяемые в технологии таблеток методом прямого прессования / И. А. Мурашкина, С. Ф. Сулейманов // Инновационные технологии в фармации: Сборник научных трудов, Иркутск, 14–15 июня 2019 года / Под общей редакцией Е. Г. Приваловой. Т. В. 6. – Иркутск: Иркутский государственный медицинский университет, 2019. – с. 404-407.
- 201 Maggi L, Bruni R, Conte U. High molecular weight polyethylene oxides (PEOs) as an alternative to HPMC in controlled release dosage forms. *Int J Pharm.* 2000 Feb 15;195(1-2):229-38.
202. Wu N, Wang LS, Tan DC, Moothala SM, Yang YY. Mathematical modeling and in vitro study of controlled drug release via a highly swellable and dissolvable polymer matrix: polyethylene oxide with high molecular weights. *J Control Release.* 2005 Feb 16;102(3):569-81.

203. Хренова, П. П. Разработка состава и технологии таблеток, содержащих фитосубстанции для применения в комплексной терапии ССЗ / П. П. Хренова, А. Б. Легостева // Евразийский союз ученых. – 2020. – № 6-6(75). – с. 31-36.
204. Получение таблеток с сочетанием экстракта гinkго и винпоцетина / Н. В. Словеснова, А. Ю. Петров, С. А. Главатских [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – № 2(23). – с. 32-37.
205. Shanmugam S. Granulation techniques and technologies: recent progresses. Bioimpacts. 2015;5(1):55-63.
206. Яборова, О. В. Выбор состава и технологии гранул с экстрактом земляники садовой листьев сухим / О. В. Яборова, Е. А. Замахаева, О. А. Олешко // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2021. – Т. 23, № 9. – с. 154-161.
207. Бркич, Г. Э. Технология влажного гранулирования в промышленной фармации / Г. Э. Бркич // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2022. – Т. 24, № 5. – с. 24-28.
208. Kallakunta VR, Patil H, Tiwari R, Ye X, Upadhye S, Vladyka RS, Sarabu S, Kim DW, Bandari S, Repka MA. Exploratory studies in heat-assisted continuous twin-screw dry granulation: A novel alternative technique to conventional dry granulation. Int J Pharm. 2019 Jan 30; 555:380-393.
209. Domosławska M, Pawlak-Morka R, Dobrzyński Ł, Herda M. Study of the influence of cellulose derivatives on physical and analytical attributes of a drug product belonging to BCS class II. Polim Med. 2018 Jul-Dec;48(2):83-90.
210. Разработка технологии гранул на основе полифракционного экстракта листьев альфредии поникшей (AlfrediacernuaL.) / Н. Н. Семенова, Д. В. Компанцев, Т. А. Шatalova [и др.] // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2022. – Т. 24, № 2. – с. 47-55. – DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-2-47-55.
211. Boakye-Gyasi ME, Owusu FWA, Entsie P, Agbenorhevi JK, Banful BKB, Bayor MT. Pectin from Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Has Potential as a Drug Release Modifier in Matrix Tablets. ScientificWorldJournal. 2021 Jan 15; 2021:6672277.

212. Choudhury A, Sarma S, Sarkar S, Kumari M, Dey BK. Polysaccharides Obtained from Vegetables: an effective source of alternative excipient. *J Pharmacopuncture.* 2022 Dec 31;25(4):317-325.
213. Salbu L, Bauer-Brandl A, Tho I. Direct compression behavior of low- and high-methoxylated pectins. *AAPS PharmSciTech.* 2010 Mar;11(1):18-26.
214. Owusu FWA, Boakye-Gyasi ME, Entsie P, Bayor MT, Ofori-Kwakye K. Utilization of Pectin from Okra as Binding Agent in Immediate Release Tablets. *Biomed Res Int.* 2021 Nov 30; 2021:6002286.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

на изобретение

№ 2838429

Фармацевтическая композиция противодиабетического действия в форме спансулы

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Стороженко Сергей Евгеньевич (RU), Степанова Элеонора Федоровна (RU), Гиёсзода Асомуудин Шамсуддин (TJ)*

Заявка № 2024139415

Приоритет изобретения 25 декабря 2024 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 16 апреля 2025 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 25 декабря 2044 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

документ подписан с электронной подписью:
Сертификат цифровой подписи № 4206705сс2025
Владелец: Зубов Юрий Сергеевич
Действителен с 10.01.2024 по 03.10.2025

Ю.С. Зубов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19)

RU (11)

2 838 429⁽¹³⁾ C1

- (51) МПК
A61K 31/64 (2006.01)
A61K 36/48 (2006.01)
A61K 36/534 (2006.01)
A61K 36/484 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/42 (2006.01)
A61K 47/58 (2017.01)
A61K 47/02 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(52) СПК

A61K 31/64 (2025.01); *A61K 36/48* (2025.01); *A61K 36/534* (2025.01); *A61K 36/484* (2025.01); *A61K 9/50* (2025.01); *A61K 47/10* (2025.01); *A61K 47/42* (2025.01); *A61K 47/58* (2025.01); *A61K 47/02* (2025.01); *A61P 3/10* (2025.01)

C 1
2 8 3 8 4 2 9R U
2 8 3 8 4 2 9
C 1

(21)(22) Заявка: 2024139415, 25.12.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
25.12.2024Дата регистрации:
16.04.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.12.2024

(45) Опубликовано: 16.04.2025 Бюл. № 11

Адрес для переписки:

660022, г. Красноярск, ул. Партизана
 Железника, 1, ФГБОУ ВО "Красноярский
 государственный медицинский университет
 имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого"
 Министерства здравоохранения РФ, Височник
 Софья Викторовна

(72) Автор(ы):

Стороженко Сергей Евгеньевич (RU),
 Степанова Элеонора Федоровна (RU),
 Гиёздода Асомуддин Шамсуддин (TJ)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Красноярский
 государственный медицинский университет
 имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого"
 Министерства здравоохранения Российской
 Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: RU 2817200 C1, 11.04.2024. RU
 2801279 C1, 07.08.2023. ГИЁСЗОДА А.Ш. и др.
 Разработка микрокапсул на базе
 комбинированной антидиабетической
 субстанции и ее фармакологическая
 характеристика, Фармация и фармакология,
 2022, т.10, N4, сс. 320-330. ГИЁСЗОДА А.Ш. и
 др. Исследование сахароснижающей
 активности фитокомпозиций
 антидиабетической (см. прод.)

(54) Фармацевтическая композиция противодиабетического действия в форме спансулы

(57) Формула изобретения

Фармацевтическая композиция противодиабетического действия, содержащая
 гликлазид, сухие экстракты травы галеги лекарственной, корня солодки голой и травы
 мяты перечной, отличающаяся тем, что выполнена в виде спансулы, в которую
 заключены микрокапсулы гликлазида и сухих экстрактов травы галеги лекарственной,
 корня солодки голой и травы мяты перечной, полученные методом диспергирования
 в системе жидкость – жидкость, при следующем соотношении компонентов в г и мас. %:

Гликлазид	3,0	10,99
Сухой экстракт травы галеги лекарственной	1,0	3,66
Сухой экстракт корня солодки голой	6,0	21,98
Сухой экстракт травы мяты перечной	3,0	10,99
Желатин	13,0	47,62
Глицерин	1,3	4,76
Итого	27,3	100,00

и гликлазид со вспомогательными веществами, при следующем содержании компонентов в г/спансула и мас.%:

Гликлазид	0,03	8,95
Микрокапсулы	0,273	81,5
Пласдон К-25	0,03	8,95
Аэросил	0,001	0,3
Магния стеарат	0,001	0,3
Итого	0,335	100,0

(56) (продолжение):

направленности действия, Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация, 2021, N4, сс. 96-104. CN 100362998 С, 23.01.2008.

R U 2 8 3 8 4 2 9 C 1

R U 2 8 3 8 4 2 9 C 1

(19) RU (11) 2 817 200⁽¹³⁾ C1

(51) МПК
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 31/64 (2006.01)
A61K 36/534 (2006.01)
A61K 36/484 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 5/50 (2006.01)
A61K 125/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 9/14 (2024.01); *A61K 31/64* (2024.01); *A61K 36/534* (2024.01); *A61K 36/484* (2024.01); *A61P 3/10* (2024.01); *A61P 5/50* (2024.01)

R U 2 8 1 7 2 0 0 C 1

(21)(22) Заявка: 2023108172, 03.04.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
03.04.2023Дата регистрации:
11.04.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 03.04.2023

(45) Опубликовано: 11.04.2024 Бюл. № 11

Адрес для переписки:

357532, Ставропольский край, г. Пятигорск,
пр. Калинина, 11, Пятигорский медико-
фармацевтический институт - филиал ФГБОУ
ВО "Волгоградский государственный
медицинский университет" МЗ РФовна

(72) Автор(ы):

Степанова Элеонора Федоровна (RU),
Стороженко Сергей Евгеньевич (RU),
Гиёсзода Асомуддин Шамсуддин (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Волгоградский
государственный медицинский университет"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ГИЁСЗОДА А.Ш. и др. Разработка микрокапсул на базе комбинированной антидиабетической субстанции и ее фармакологическая характеристика // Фармация и фармакология. 2022; N 10(4), с. 320-330. ГИЁСЗОДА А.Ш. и др. Исследование сахароснижающей активности фитокомпозиции антидиабетической направленности действия // Вестник ВГУ, Химия. Биология. Фармация. (см. прод.)

R U 2 8 1 7 2 0 0 C 1

(54) Фармацевтическая композиция противодиабетического действия в виде саше

(57) Реферат:

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности, медицине, фармакологии. Композиция противодиабетического действия содержит компоненты в г/саше (мас.%): гликлазид 0,06 (1,6), сухой экстракт травы галеги лекарственной 0,10 (2,6), сухой экстракт корня солодки 0,60 (16,0), сухой экстракт травы мяты перечной 0,30 (8,0), пектин яблочный 2,00 (53,2),

гидроксиэтилцеллюлоза 0,50 (13,3), раствор коллидона К-30 в спирте этиловом 0,20 (5,3). Изобретение обеспечивает создание фармацевтической композиции противодиабетического действия комплексного состава, выполненной в виде саше, содержащей гликлазид и смягчающие его побочные действия сухие экстракты галеги лекарственной, корня солодки, мяты перечной. 3 табл., 3 пр.

(56) (продолжение):

2021, N 4, с. 96-104. СТОРОЖЕНКО С.Е. и др. Место и роль гликлакзида в современной фармакотерапии сахарного диабета 2-го типа // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018, N 21(12), с. 15-18. MX 2011011478 A, 18.09.2013.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) RU (11) 2 801 279⁽¹³⁾ C1

(51) МПК
A61K 31/64 (2006.01) *A61K 125/00* (2006.01)
A61K 36/48 (2006.01) *A61K 127/00* (2006.01)
A61K 36/484 (2006.01)
A61K 36/534 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01)
A61K 9/22 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 31/64 (2023.05); *A61K 36/48* (2023.05); *A61K 36/484* (2023.05); *A61K 36/534* (2023.05); *A61K 47/10* (2023.05); *A61K 47/32* (2023.05); *A61K 47/38* (2023.05); *A61K 47/02* (2023.05); *A61K 9/2031* (2023.05); *A61P 3/10* (2023.05); *A61K 2121/00* (2023.05)

C1
2 801 279
RU

(21)(22) Заявка: 2022115106, 03.06.2022
(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
03.06.2022
Дата регистрации:
07.08.2023
Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 03.06.2022
(45) Опубликовано: 07.08.2023 Бюл. № 22
Адрес для переписки:
357532, Ставропольский край, г. Пятигорск,
пр. Калинина , 11, Пятигорский медико-
фармацевтический институт - филиал ФГБОУ
ВО "Волгоградский государственный
медицинский университет" Министерства
здравоохранения Российской Федерации

(72) Автор(ы):
Степанова Элеонора Федоровна (RU),
Гиёсзода Асомуддин Шамсуддин (RU),
Шевченко Александр Михайлович (RU),
Курбанов Арсен Мирзабекович (RU)
(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Волгоградский
государственный медицинский университет"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (RU)
(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2273482 C2, 10.04.2006. RU
2333760 C2, 20.09.2008. RU 2380097 C1,
27.01.2010. RU 2359677 C2, 27.06.2009. UZ 4722
C, 31.07.2013. CN 100362998 C, 23.01.2008.
А.ГИЁСЗОДА и др. Исследование
сахароснижающей активности
фитокомпозиций антидиабетической
направленности действия. Вестник ВГУ.
Серия: Химия. Биология. Фармация, 2021, N4,
с.96-104.

(54) Фармацевтическая композиция противодиабетического действия в твердой лекарственной форме в виде таблеток

(57) Реферат:

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности, а именно к производству средств противодиабетического действия. Предложена твердая дозированная лекарственная форма пролонгированного действия, выполненная в виде таблеток, с противодиабетической активностью, содержащая гликазид и микрокапсулированные сухие экстракты галеги лекарственной, солодки голой

и мяты перечной, а также полизтиленгликоль 6000, при определенном соотношении компонентов. Предложенная лекарственная форма характеризуется пролонгированным высвобождением гликазида и фармакологически активных веществ, содержащихся в сухих экстрактах, обеспечивает повышение эффективности и безопасности лечения сахарного диабета за счет контроля скорости

высвобождения гликлазида и поддержания равномерной концентрации его в крови, а также

сглаживания побочных эффектов растительными компонентами композиции. 3 табл.

R U 2 8 0 1 2 7 9 C 1

R U 2 8 0 1 2 7 9 C 1

Приложение 3

Конфиденциальность гарантируется
получателем информации
Форма 1
Для служебного пользования.
Экз.№

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ,
ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ**

Утверждаю:

Заместитель директора по
НИР ПМФИ - филиала ФГБОУ
ВО ВолгГМУ Минздрава
России

д.ф.н. профессор

Коновалов Д.А.

20 ___ г.



ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ

на производство лекарственной формы саше- гранулы

Срок действия регламента до «___» 20 ___

Пятигорск, 2025

Приложение 4

<p style="text-align: center;"> Чумхурии Тоҷикистон Ҷамъияти дорон масъулияти маҳдуни «ЯСМИНА МЕД» </p> <p style="text-align: center;"> Республика Таджикистан Общество с ограниченной ответственностью «ЯСМИНА МЕД» </p>		<p style="text-align: right;"> Republik of Tajikistan «YASMINA MED» Limited Liability Company </p>
<p>КОРХОНАИ ИЛМӢ - ОЗМОИШИ ИСТЕХСОЛИ ДОРУВОРӢ НАУЧНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ</p>		
<p>Сурога: Чумхурии Тоҷикистон, ш. Душанбе, ноҳия Шоҳмансур, кӯчаи Кӯштеппа-3, хонаи 143. РМА: 320005645. Адрес: Республика Таджикистан, г. Душанбе, р-н Шоҳмансур, ул. Кӯштеппа-3, дом 143. ИИН: 320005645. Тел. +992 93 500 31 21. E-mail: sultanov54@mail.ru</p>		
<div style="text-align: center;">  <p style="margin: 0; font-weight: bold;">ДИРЕКТОР ООО «Ясмина Мед» Ю. К. Султонов.</p> <p style="margin: 0; font-style: italic;">28 февраля 2025 г.</p> </div>		
<p>АКТ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ВНЕДРЕНИЯ</p>		
<p>Мы нижеподписавшиеся, технический директор -главный технолог Научно-экспериментального производственного фармацевтического предприятия - ООО «Ясмина Мед» - Султонов Алишер Юлдошджонович и докторант кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета» - Гиёсзода Асомуддин Шамсуддин, составили настоящий акт, о том, что на базе предприятия проведена апробация технологии получения в псевдоожженном (кипячком) слое гранул фитокомпозиции гликлазида с экстрактами травы галеги, солодкового корня и травы мяты в саше-пакетиках, по прописи разработанной Пятигорским медико-фармацевтическим институтом – филиалом ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета» (г. Пятигорск, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Степанова Элеонора Фёдоровна, докторант кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Гиёсзода Асомуддин Шамсуддин).</p>		
<p>Проведенные работы показали воспроизводимость предложенной технологии в условиях промышленного предприятия.</p>		
<p>ПОДПИСИ:</p>		
<p>Технический директор- главный технолог ООО «Ясмина Мед»  А. Ю. Султонов.</p>		
<p>Докторант кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико- фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета».  А. Ш. Гиёсзода.</p>		

Приложение 5



УВЕРЖДАЮ:

Декан фармацевтического факультета

НОУ «ООО Медицинский колледж Хамадони» Р.Т

Шамсуддинзода А.

Ш.Шамсуддинзода 20.02.2015 г.

Акт внедрения

1. Наименование научно-исследовательской работы: диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук «Теоретическое и экспериментальное обоснование создания инновационных лекарственных форм на базе фитокомпозиций антидиабетического действия», выполненная в Пятигорском медико-фармацевтическом институте филиале ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии.
2. Научный руководитель: профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор фармацевтических наук, профессор Э.Ф. Степанова.
3. Исполнитель: Докторант кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель директора по науке, инновации и международной отрасли ОOO «Медицинский колледж Хамадони» Республики Таджикистан Гиёсзода Асомуддин Ш.
4. Наименование учреждения, внедрившего разработку: ОOO НОУ «Медицинский колледж Хамадони» Республики Таджикистан, « кафедра Фармация ».
5. Основные результаты, их практическая и теоретическая значимость: результаты диссертационного исследования используются в лекционном курсе и при проведении практических занятий со студентами фармацевтического факультета – специальность Фармация, в рамках преподавания дисциплины «Фармацевтическая технология» по темам «Промышленное производство микрокапсулы, таблетки, спансулы саше-гранулы ».

Заведующий кафедра

Автор

Сайдахмадов С.

к.б.н Гиёсзода А.Ш

Приложение 6**Акт внедрения**

- 1. Наименование научно-исследовательской работы:** диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук «Теоретическое и экспериментальное обоснование создания инновационных лекарственных форм на базе фитокомпозиций антидиабетического действия», выполненная в Пятигорском медико-фармацевтическом институте филиале ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии.
- 2. Научный руководитель:** профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор фармацевтических наук, профессор Э.Ф. Степанова.
- 3. Исполнитель:** Докторант кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель директора по науке, инновации и международной отрасли ООО «Медицинский колледж Хамадони» Республики Таджикистан Гиёсзода Асомудин Ш.
- 4. Наименование учреждения, внедрившего разработку:** ГОУ ТНУ Республики Таджикистан, кафедра фармацевтической технологий и фармакологии.
- 5. Основные результаты внедрения, их практическая и теоретическая значимость:** результаты диссертационного исследования используются в лекционном курсе и при проведении практических занятий со студентами фармацевтического факультета – специальность Фармация, в рамках преподавания дисциплины «Фармацевтическая технология» по темам «Промышленное производство микрокапсулы, таблетки, спансулы саше-гранулы».

Заведующий кафедра

к.ф.н, доцент Шарифов Х.Ш

Автор

к.б.н Гиёсзода А.Ш

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего образования
**«Красноярский государственный
медицинский университет
имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»**
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
ФГБОУ ВО КрасГМУ
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Минздрава России
Партизана Железняка ул., д. 1, г. Красноярск. 660022
тел. 220-13-95 факс (391) 228-08-60, e-mail: rector@krasgm.ru
ОКПО: 01962882 ОГРН: 1022402471992
ОКТМО: 04701000
ИНН/КПП: 2463015109/246301001

12.09.2015 № 267.

На № _____ от _____
г

Акт внедрения

1. Наименование научно-исследовательской работы: диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук «Теоретическое и экспериментальное обоснование создания инновационных лекарственных форм на базе фитокомпозиций антидиабетического действия», выполненная в Пятигорском медико-фармацевтическом институте филиале ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии.
2. Научный руководитель: профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор фармацевтических наук, профессор Э.Ф. Степанова.
3. Исполнитель: докторант кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель директора по науке, инновации и международным отношениям ООО «Медицинский колледж Хамадони» Республики Таджикистан А.Ш. Гиёсзода.
4. Наименование учреждения, внедрившего разработку: ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармации с курсом ПО.

5. Основные результаты внедрения, их практическая и теоретическая значимость: результаты диссертационного исследования используются в лекционном курсе и при проведении практических занятий со студентами специальности Фармация медико-психолог-фармацевтического факультета, в рамках преподавания дисциплины «Фармацевтическая технология» по темам «Технологии инкапсулирования. Микрокапсулы», «Промышленное производство гранул, драже, пеллет», «Производство таблеток. Таблетки покрытые оболочкой».

Доцент кафедры фармации с курсом ПО

С.Е. Стороженко

Декан медико-психолог-фармацевтического факультета



К.В. Шадрин

Приложение 8



Юридический адрес: ООО «ХАРМС», Россия 191167, Санкт-Петербург, ул. Александра Невского, д. 9, лит. А,
пом. 306, тел. 327-07-76, тел./факс 274-85-19
Адрес производства: ООО «ХАРМС», Россия 181330, Островский район,
Воронцовская волость, с. Воронцово, ул. Советская, д. 161 тел.(81152)93144, тел./факс (81152)93298

МИНИСТЕРСТВО
ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ТОРГОВЛИ РФ
ЛИЦЕНЗИЯ № 00333-ЛС от 09 июля 2018 г
GMP-0137-000242/18

ПАСПОРТ № 17 л от 01.02.2022

Солодки экстракт сухой

наименование продукции

010122

номер серии

Дата выпуска 01.02.2022 г. Годен до 01.2027 г. Количество продукции 20,00 кг
Анализ выполнен в соответствии с требованиями Р N002173/01-280411

Наименование показателей по НД	Нормы по НД	Результаты испытаний
Описание	Аморфный порошок от коричневато-желтого до коричневого цвета со слабым своеобразным запахом. При взбалтывании с водой образует коллоидный, сильно пенящийся раствор	Соответствует
Подлинность	Удовлетворяет качественной реакции на глицерризиновую кислоту	Удовлетворяет
	TCX УФ-спектр поглощения раствора Б и раствора 2 СО моноаммонийной соли глицерризиновой кислоты гидрата имеет максимум поглощения (258+2) нм	Соответствует 258
Потеря в массе при высушивании	Не более 5,0 %	4,8 %
Тяжелые металлы	Не более 0,01 %	Менее 0,01%
Микробиологическая чистота	Не более 10^4 аэробных бактерий в 1г	Соответствует
	Не более 100 грибов в 1г	Отсутствие
	Pseudomonas aeruginosa – отсутствие в 1г	Отсутствие
	Staphylococcus aureus – отсутствие в 1г	Отсутствие
	Escherichia coli – отсутствие в 1г	Отсутствие
	Salmonella – отсутствие в 10г	Отсутствие
Количественное определение	не более 100 энтеробактерий в 1г	Отсутствие
	Содержание глицерризиновой кислоты в пересчете наmonoаммонийную соль глицерризиновой кислоты гидрата и абсолютно сухое вещество не менее 17,0 %	24,7 %
Упаковка	По 1,0; 2,0 и 5,0 кг в двойные пакеты из пленки полизиленовой или другой полимерной пленки соответствующей требованиям ГОСТ Р 50962-96. Для герметизации горловины пакетов запаивают сварным швом и вкладывают в ящики из картона гофрированного в количестве от 2 до 10 двойных пакетов из пленки полизиленовой.	По 5,0 кг в двойные пакеты из пленки полизиленовой. Для герметизации горловины пакетов запаиваются сварным швом и вложены в ящики из картона гофрированного в количестве 2 двойных пакетов из пленки полизиленовой.
Маркировка	На этикетке указывают предприятие изготовитель и его зарегистрированный товарный знак с предварительной маркировкой ®, название субстанции, «субстанция», «для производства нестерильных лекарственных средств», количество в кг, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности, штриховой код	На этикетке указано предприятие изготовитель и его зарегистрированный товарный знак с предварительной маркировкой ®, название субстанции, «субстанция», «для производства нестерильных лекарственных средств», количество в кг, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности, штриховой код

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Соответствует требованиям Р N002173/01-280411

Химик контрольно-аналитической лаборатории

Заместитель генерального директора по качеству

* Павлова Л.И.

Таевере Е.Д.

Разрешено
к отгрузке
01.02.2022



Приложение 9

ООО «Казанский Завод Экстрактов»

Сертификат анализа

Экстракт крапивы

Партия № См20201003 Дата производства: 03.10.2020 Срок годности :02.10.2022			
Общая информация			
Используемое сырье	Лист	Используемые растворители	Вода и спирт
Ботаническое название	<i>Urtica dioica L.</i>		
Параметры	Описание	Метод	Результат теста
Физико-химические показатели			
Цвет	Коричневый	Органолептический	Соответствует
Запах	Характерный	Органолептический	Соответствует
Внешний вид	Тонкодисперсный порошок	Органолептический	Соответствует
Аналитическое качество			
Идентификация	Идентичен образцу R.S. (стандартному образцу)	Высокоэффективная тонкослойная хроматография	Идентичный
Доля содержания экстракта	5 г		
Ситовой анализ	100% через сито 80 меш	USP36<786>	Соответствует
Потеря веса при высушивании	≤5 0 %	Eur.Ph 7.0 [2.8.17]	Соответствует
Общее содержание зольных веществ	≤10.0%	Eur.Ph 7.0 [2.4.16]	3.33% 8.89%
Насыщенная плотность	40~60г/100 мл	Eur.Ph.7.0 [2.9.34]	45г/100мл
Плотность утряски	60~90г/100мл	Eur.Ph.7.0 [2.9.34]	61г/100мл
Содержание тяжелых металлов			
Свинец (Pb)	≤3.0 мг/кг	Eur.Ph 7.0 <2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.3458 мг/кг
Мышьяк (As)	≤2.0 мг/кг	Eur.Ph.7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.8373 мг/кг
Кадмий (Cd)	≤1.0 мг/кг	Eur.Ph 7.0 <2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.0316 мг/кг
Ртуть(Hg)	≤0.1 мг/кг	Eur.Ph.7.0<2.2.58>ICP-MS(масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.0144 мг/кг
Растворимый остаток	Соответствует Eur.Ph.7.0<5.4>	Eur.Ph.7.0<2.4.24>	Соответствует
Остаток пестицидов	Соответствует требованиям Фармакопеи США	USP36<561>	Соответствует
Микробиологические показатели			
Чашечный подсчет	≤1000 КОЕ/г	USP36<61>	Соответствует
Дрожжевые и плесневые грибки	≤100 КОЕ/г	USP36<61>	Соответствует
Кишечная палочка	Отсутствует	USP36<62>	Соответствует
Сальмонела	Отсутствует	USP36<62>	Соответствует
Упаковка и хранение	Двойная пластиковая упаковка с бумажной оберткой. Вес нетто 25 кг, размеры упаковки 35см (ширина) x 51 (высота) см. Хранить в целлофане закрытом контейнере. Исключить попадание влаги, света, кислорода.		
Срок хранения	24 месяца при соблюдении вышеуказанных условий хранения. Использовать продукт в своей первоначальной упаковке.		



для документов

Приложение 10

ООО «Казанский Завод Экстрактов»
Сертификат анализа
Экстракт мяты

Партия № С 20201215 Дата производства: 15122020 Срок годности: 14122022			
Общая информация			
Используемое сырье	Лист <i>Mentha haplocalyx Briq.</i>	Используемые растворители	Вода и спирт
Ботаническое название			
Параметры	Описание	Метод	Результат теста
Физико-химические показатели			
Цвет	Светло-коричневый	Органолептический	Соответствует
Запах	Характерный	Органолептический	Соответствует
Внешний вид	Тонкослойный порошок	Органолептический	Соответствует
Аналитическое качество			
Идентификация	Идентичен образцу R.S. (стандартному образцу)	Высокоэффективная тонкослойная хроматография	Идентичный
Доля содержания экстракта	5.1		Соответствует
Ситовый анализ	100% через сито 80 меш	USP34<786>	Соответствует
Потеря веса при высушивании	≤5.0%	Eur.Ph.7.0 [2.8.17]	4.15%
Общее содержание зольных веществ	≤10.0%	Eur.Ph.7.0[2.4.16]	6.71%
Пасынчная плотность	40-60 г/100 мл	Eur.Ph.7.0[2.9.34]	50 г/100 мл
Плотность утряски	60-90 г/100 мл	Eur.Ph.7.0[2.9.34]	77 г/100 мл
Содержание тяжелых металлов			
Свинец (Pb)	≤3.0 мг/кг	Eur.Ph.7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.3118 мг/кг
Мышьяк(As)	≤2.0 мг/кг	Eur.Ph.7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.21191 мг/кг
Кадмий (Cd)	≤1.0 мг/кг	Eur.Ph.7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.3118 мг/кг
Ртуть (Hg)	≤0.1 мг/кг	Eur.Ph.7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.0140 мг/кг
Растворимый остаток	Соответствует Eur.Ph.7.0<5.4>	Eur.Ph.7.0<2.4.24>	Соответствует
Микробиологические показатели			
Чашечный подсчет	≤1000 КОЕ/г	USP34<61>	Соответствует
Дрожжевые и плесневые грибки	≤100 КОЕ/г	USP34<61>	Соответствует
Кишечная палочка	Отсутствует	USP34<62>	Соответствует
Сальмонелла	Отсутствует	USP34<62>	Соответствует
Упаковка и хранение	Двойная пластиковая упаковка с бумажной оболочкой. Вес нетто 25 кг, размеры упаковки 35 см (ширина) x 51 см (высота). Хранить в плотно закрытом контейнере. Исключить попадание влаги, света, кислорода		
Срок хранения	24 месяца при соблюдении вышеуказанных условий, и при хранении продукта в своей первоначальной упаковке.		



Приложение 11

ООО «Казанский Завод Экстрактов»

Сертификат анализа

Экстракт галеги лекарственной 5:1

Партия № 20220315		Дата производства: 15032022	Срок годности: 14032024
Общая информация		Используемые растворители	Вода и этанол
Используемая часть	Трава <i>Galega officinalis L.</i>	Используемые растворители	Вода и этанол
Ботаническое название			
Параметры	Описание	Метод	Результат теста
Физико-химические показатели			
Цвет	Коричневый	Органолептический	Соответствует
Запах	Характерный	Органолептический	Соответствует
Внешний вид	Тонкодисперсный порошок	Органолептический	Соответствует
Аналитическое качество			
Идентификация	Идентичен образцу R.S. (стандартному образцу)	Высокоэффективная тонкослойная хроматография	Идентичный
Доля содержания экстракта	5:1		
Ситовый анализ	100% через сито 80 меш	USP36<786>	Соответствует
Потеря веса при высушивании	≤5,0%	Eur.Ph. 0 [2.8.12]	4,98%
Общее содержание зольных веществ	≤10,0%	Eur.Ph. 6.0 [2.4.16]	5,30%
Насыпная плотность	40~60 г/100 мл	Eur.Ph. 6.0 [2.9.15]	48 г/100 мл
Плотность утряски	60~90 г/100 мл	Eur.Ph. 6.0 [2.9.15]	56 г/100 мл
Содержание тяжелых металлов			
Свинец (Pb)	≤3,0 мг/кг	Eur.Ph.6.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0,3390мг/кг
Мышьяк (As)	≤2,0 мг/кг	Eur.Ph.6.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0,1002 мг/кг
Кадмий (Cd)	≤1,0 мг/кг	Eur.Ph.6.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	< 0,01 мг/кг
Ртуть (Hg)	≤0,1 мг/кг	Eur.Ph.6.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0,01 мг/кг
Остаток растворителя	Соответствует Eur.Ph.6.0<5.4>	Eur.Ph. 6.0<2.4.24>	Соответствует
Микробиологические показатели			
Чашечный подсчет	≤1000 КОЕ/г	USP36<61>	Соответствует
Дрожжевые и плесневые грибки	≤100 КОЕ/г	USP36<61>	Соответствует
Кишечная палочка	Отсутствует	USP36<62>	Соответствует
Сальмонелла	Отсутствует	USP36<62>	Соответствует
Упаковка и хранение			
Срок хранения	Двойная пластиковая упаковка с бумажной оболочкой.. Вес нетто 25 кг, размеры упаковки 35см (ширина) x 51 (высота) см. Хранить в плотно закрытом контейнере. Исключить попадание влажности, света, кислорода.		
	24 месяца при соблюдении вышеуказанных условий и при хранении продукта в своей первоначальной упаковке.		



Приложение 12

ООО «Казанский Завод Экстрактов»

Сертификат анализа

Экстракт шиповника 4:1

Партия N: 12092020		Дата производства: 12092020 Срок годности: 11092022	
Общая информация			
Используемое сырье Ботаническое название	Плоды <i>Rosa canina</i>	Используемые растворители	Вода и этанол
Параметры	Описание	Метод	Результат теста
Физико-химические показатели			
Цвет	Коричневый	Органолептический	Соответствует
Запах	Характерный	Органолептический	Соответствует
Внешний вид	Гонкодисперсный порошок	Органолептический	Соответствует
Аналитическое качество			
Идентификация	Идентичен образцу R.S. (стандартному образцу)	Высокоэффективная тонкослойная хроматография	Идентичный
Соотношение экстракта	4:1		
Ситовый анализ	100% через сито 80 меш	USP36<786>	Соответствует
Потеря веса при высушивании	≤5.0%	Eur.Ph. 7.0 [2.8.17]	Соответствует 3.38%
Общее содержание зольных веществ	≤10 0%	Eur.Ph. 7.0[2.4.16]	4.08%
Насыпная плотность	40~60 г/100 мл	Eur.Ph. 7.0 [2.9.34]	49 г/100 мл
Плотность утряски	60~90 г/100 мл	Eur.Ph. 7.0 [2.9.34]	70 г/100 мл
Содержание тяжелых металлов			
Свинец (Pb)	≤3.0 мг/кг	Eur.Ph. 7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.2597 мг/кг
Мышьяк(As)	≤2.0 мг/кг	Eur.Ph. 7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.2154 мг/кг
Кадмий (Cd)	≤1.0 мг/кг	Eur.Ph. 7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.0126 мг/кг
Ртуть (Hg)	≤0.1 мг/кг	Eur.Ph. 7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.0251 мг/кг
Растворимый остаток	Соответствует Eur.Ph. 7.0<5.4>	Eur.Ph. 7.0<2.4.24>	Соответствует
Остаток пестицидов	Соответствует требованиям Фармакопеи США	Eur.Ph. 7.0<2.4.24> USP36<561>	Соответствует
Микробиологические показатели			
Чашечный подсчет	≤1000 КОЕ/г	USP36<61>	Соответствует
Дрожжевые и плесневые грибки	≤100 КОЕ/г	USP36<61>	Соответствует
Кишечная палочка	Отсутствует	USP36<62>	Соответствует
Сальмонелла	Отсутствует	USP36<62>	Соответствует
Упаковка и хранение	Двойная пластиковая упаковка с бумажной оберткой. Вес нетто 25 кг. размеры упаковки 35 см (ширина) x 51 см (высота). Хранить в сухом, защищенном от прямых солнечных лучей контейнере. Исключить попадание влаги, света, кислорода.		
Срок хранения	24 месяца при соблюдении вышеуказанных условий. При хранении продукта в своей первоначальной упаковке.		



Приложение 13

**ООО «Казанский Завод Экстрактов»
Сертификат анализа**

Экстракт липы, содержащий 2% рутина (ВЭЖХ)

Общая информация		Партия № Cptsh 20201221 Дата производства: 22.12.2020 Срок годности: 21.12.2022	
Параметры	Описание	Метод	Результат теста
Физико-химические показатели			
Цвет	Желто- коричневый	Органолептический	Соответствует
Запах	Характерный	Органолептический	Соответствует
Внешний вид	Гонкодисперсный порошок	Органолептический	Соответствует
Аналитическое качество			
Идентификация	Идентичен образцу R.S (стандартному образцу)	Высокоэффективная тонкослойная хроматография	Идентичный
Рутин	≥2.0%	ВЭЖХ	2.75%
Ситовый анализ	90% через сито 80 меш	USP36<786>	Соответствует
Потеря веса при высушивании	≤5 0%	Eur Ph. 7.0 [2.8.17]	2.82%
Общее содержание зольных веществ	≤ 10.0%	Eur Ph. 7.0[2.4.16]	8.91%
Насыпная плотность	40~60 г/100 мл	Eur Ph 7.0 [2.9.34]	44г/100 мл
Плотность утряски	60~90 г/100 мл	Eur Ph 7.0 [2.9.34]	67г/100 мл
Содержание тяжелых металлов			
Свинец (Pb)	≤3.0 мг/кг	Eur.Ph7.0 <2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.2542 мг/кг
Мышьяк(As)	≤2.0 мг/кг	Eur.Ph 7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.507мг/кг
Кадмий (Cd)	≤1.0 мг/кг	Eur Ph 7.0.<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	0.0233 мг/кг
Ртуть (Hg)	≤0.1 мг/кг	Eur Ph. 7.0<2.2.58>ICP-MS (масс-спектрометрия с индукционной плазмой)	<0.01 мг/кг
Остаток растворителя	Соответствует Eur.Ph. 7.0<5.4>	Eur.Ph 6.0<2.4.24>	Соответствует
Микробиологические показатели			
Чаечный подсчет	≤1000 КОЕ/г	USP36<61>	Соответствует
Дрожжевые и плесневые грибки	≤100 КОЕ/г	USP36<61>	Соответствует
Кишечная палочка	Отсутствует	USP36<62>	Соответствует
Сальмонелла	Отсутствует	USP36<62>	Соответствует
Упаковка и хранение			
Срок хранения	Двойная пластиковая упаковка с бумажной оберткой. Вес нетто 25 кг, размеры упаковки 35 см (ширина) x 51cm (высота). Хранить в герметичном контейнере. Исключить попадание влаги, света, кис.города.	Сертификат о соответствии законодательства Республики Татарстан о безопасности пищевых производств № 1021602854 от 15.07.2019 г. Казанский завод экстрактов	24 месяца при соблюдении вышеуказанных условий хранения и отсутствии попадания продукта в свой первоначальной упаковке.

