



Республика Таджикистан
A61K9/10;A61K9/14;A61

(19) **TJ** (11) **971**

(51) **МПК**

K47/30;C08B37/08; C08H1/06; C08J3/075

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения** К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

(21) 1801242

(22) 05.10.2018

(46) Бюл.143, 2018

(71) Институт химии имени В.И. Никитина
Академии наук Республики Таджикистан (TJ).

(72) Мухидинов З.К. (TJ); Бобокалонов Дж. Т. (TJ);
Насриддинов А.С. (TJ); Лиу Лин Шу. (CN).

(73) Институт химии имени В.И. Никитина
Академии наук Республики Таджикистан (TJ)

(54) **СПОСОБ ФОРМИРОВАНИЯ
ГИДРОГЕЛЕВЫХ МИКРОСФЕР ДЛЯ
СОЗДАНИЯ СИСТЕМ ДОСТАВКИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ**

(56)1. Liu L.S.,Kost J, Yan F. and Spiro R.S.
Hydrogels from Biopolymer Hybrid for Biomedical,
Food, and Functional Food Applications. *Polymers*
2012, 4, 997-1011; doi:10.3390/polym4020997.

2. Kumar R., Malviya R. and Sharma P.K.
Pharmaceutical Applications and Patents in Natural
Polymer Based Drug Delivery System. *Advances in
Biological Research* 9 (1): 24-32, 2015. DOI:
10.5829/idosi.abr.2015.9.1.9226.

3. US 2003/0100739 A1. Method for producing cross-
linked hyaluronic acid-protein bio-composites,
publication data May 29, 2003.

4. Патент РФ 2467766. Пероральная система
доставки лекарственных веществ в область
кишечника. Оpubл. 27.11.2012, Бюл. № 33.
Авторы: Мустафин Р.И., Семина И.И., Буховец
А.В. и др.

5. WO2008067655 (A1). Biocompatible hydrogel-
based scaffolds. C08B37/08; C08H1/06; C08J3/075.
2008-06-12.

6. Vinees Pillay, Michael P. Danckwerts and Reza
Fassihi. Novel Modulation of Drug Delivery Using
Binary Zinc-Alginate-Pectinate Polyspheres for Zero-
Order Kinetics Over Several Days Experimental
Design Strategy to Elucidate the Crosslinking
Mechanism. *Drug Development and Industrial
Pharmacy*, 31:191-207, 2005

7. Мухидинов З.К., Касимова Г.Ф., Бобокалонов
Д.Т., Насриддинов А.С., и др. Гидрогелевые
микросферы на основе биоразрушающих
полимеров, как носители лекарственных средств –

Изв. АН РТ. Отд. физ.-мат., хим., геол. и техн.н.,
2009, №1 (134), с. 59-65.

8. Джулиева Г.Х., Махкамов К.Х., Мухидинов
З.К., Композиция на основе карбоксиметил-
целлюлозы и зеина как носитель лекарственных
веществ. Докл. АН том. 52, №11, 2009, ст.868-872.

9. Мухидинов З.К., Касимова Г.Ф., Бобокалонов
Д.Т., Тешаев Х.И., Халиков Д.Х., Луи Л.Ш.
Пектин-зеиновые микросферы как носители
лекарственных средств - *Химико-фармацевти-
ческий журнал*, 2010, т.44, №10, с.35-39.

10. Muhidinov Z.K., TeshaeVKh.I., Kasimova G. F.,
Nasriddinov A.S., Liu L.S. Pectin-Zein Hydrogels for
delivery of Drugs and Nutrients - In: *Gum and
Stabilizers for the Food Industry* 16, RSC publishing,
ed. P.A. Williams and G.O. Fillips, (2012), pp. 401-
406.

11. Касимова Г.Ф., Мухидинов З.К., Джонмуродов
А.С., Лиу Л.Ш. Сравнительное исследование
формирования гидрогелевых микросфер на основе
различных пектинов и зеина кукурузы с
модельным лекарством. Докл. АН РТ. 2013, т.56,
№5, с.399-405

12. ЕА Патент 016871. Способ получения пектина
из подсолнечника, опубл. 30 августа бюл. №8,
2012г. Мухидинов З.К., М.Л. Фишман, ЛШ Лиу.

13. TJ Патент 563. Флеш способ экстракции
пектина из растительного сырья., опуб. 2013 бюл.
№ 86 НПП Р. Таджикистан. Мухидинов З.К.,
Тешаев Х.И., Джонмуродов А.С., Лиу Л.Ш.

14. Бобокалонов Д.Т., Касимова Г.Ф., Мухидинов
З.К. и др. Кинетика высвобождения пироксикама
из гидрогелей на основе низкометилизованного
цитрусового пектина и зеина. *Химико – Фармацев-
тический журнал*, т. 46, №1, 2012, ст 73-76

15. Peppas N.A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa
H. – *European J. of Pharmaceutics and Biopharma-
ceutics*, 2000, 50, pp. 27-46.

16. Muhidinov Z.K., Bobokalonov J.T., Liu L.S., and
Fassihi R. A Kinetic Study of Poor Water Soluble
Drug Released from Pectin Microcapsules Using
Diffusion/Dissolution Model.// *ACS Symposium
series No. 992 New Delivery Systems for Controlled
Drug Release from Naturally Occurring Materials.* -
2008.- Chapter 11, -p. 193-208.

17. Бобокалонов Д.Т. Фармакокинетика новых лекарственных форм пироксикама. Автореферат дис. на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Душанбе 2011.

18. Бобокалонов Д.Т., Мухидинов З.К., Рахимов И.Ф., и др. Кинетика выхода пироксикама из зеин - пектиновых носителей в опытах Ex Vivo. Химико-фармацевтический журнал. Том 46, №6, 2012, ст. 98-101

19. Muhidinov Z.K., Bobokalnov J.T., Khojaeva F., Rahimov F., Liu L.S. In Vivo drug release study on pectin and zein delivery system. International Conference and Exhibition on Pharmaceuticals, Nutraceutical and Cosmeceutical Technology, PharmaTech 2012, 20-21 November 2012, Kuala Lumpur, Malaysia. P. 79.

(57) Изобретение относится к медицине, фармацевтике и биотехнологии и относится к способам максимальной доставки лекарственных или биологически-активных веществ в кишечник, с использованием систем доставки лекарственных веществ (СДЛ) на основе пищевых биополимеров, с целью регулируемого их высвобождения.

Настоящее изобретение имеет отношение к созданию новым улучшенным композициям для доставки легко разлагаемых, плохо растворимых биологически-активных и лекарственных веществ (ЛВ) в желудке и с целью снижения их побочного действия на организм человека, а также с улучшенным композициям для лечения инфекционных, воспалительных и раковых заболеваний химиотерапией. Разработка систем на основе биосовместимых биополимеров, из пищевых продуктов, и внедрение их на практике,

как новая поколения функциональная пища, предоставляет пациентам ряд облегчение по дозировка, приёму, улучшает биодоступность и уменьшает побочные эффекты активного ингредиента.

В предложенном изобретении разработаны новые системы доставки лекарственных веществ (СДЛ) на основе пектинов различного происхождения и зеина кукурузы. Установлено, что степень насыщения лекарством отличается в зависимости от структурных особенностей пектиновых полисахаридов и способа формирования микросфер. Показано, что используя пектины различного происхождения можно получать комплексы с определенными характеристиками, с заданным составом, структурой и степенью насыщения лекарством.

На основании кинетических исследований, установлен процесс формирования зеин-пектиновых гидрогелей с различными пектинами, выявлен механизм процесса высвобождения модельного ЛВ из них, путем изменения типа и соотношения биополимеров, что позволяет регулировать скоростью диффузии, и является необходимым при создании матричных пролонгированных систем для контролируемого высвобождения ЛВ.

Таким образом, данное изобретение открывает путь к созданию лекарственных форм нового поколения с улучшенными фармакокинетическими свойствами, в особенности для препаратов с ярко выраженной токсичностью (антибиотики, противовоспалительные, противотуберкулезные, противораковые и тд.).

Изобретение относится к медицине, фармацевтике и биотехнологии и относится к способам максимальной доставки лекарственных или биологически-активных веществ в кишечник, с использованием систем доставки лекарственных веществ (СДЛ) на основе доступных биополимеров, с целью регулируемого их высвобождения.

В соответствие с настоящим изобретением лекарственное или биологические активные средство заключено в носителе на основе пектинового гидрогеля с включением в нем гидрофобного белказеина, способную к высвобождению заключённого лекарственного средства в результате действия кишечной среды и ферментов.

Настоящее изобретение имеет отношение к новым улучшенным композициям для доставки легко разлагаемых, плохо растворимых биологически-активных и лекарственных веществ (ЛВ) в желудке и с целью, снижения их побочного действия на организм человека, а также с улучшенным композициям для лечения раковых заболеваний химиотерапией. Разработка систем на основе биосовместимых биополимеров, из пищевых продуктов, и внедрение их на практике, как новая поколения функциональная пища, предоставляет пациентам ряд облегчение по дозировке, приёму, улучшает биодоступность и уменьшает побочные эффекты активного ингредиента.

Широкий ряд новых средств доставки были разработан до настоящего времени для лечения различных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), рака и новые средства были разработаны на основе синтетических полимеров, полимеров молочной кислоты, белков, полисахаридов, производных целлюлозы и другие в виде гидрогелей, эмульсий, полимерных композитов, защитные оболочки (scaffolds), гидрогели, микросферы, липосферы, наночастицы, которые являются средством доставки и модуляторами высвобождения адсорбированного лекарства [1,2].

Основным местом для доставки многих ЛВ предназначенных для трансфера в кровоток является кишечная пространств, особенно полость толстой кишки. Доставка ЛВ в эту зону ЖКТ обладает значительные терапевтические преимущества для пациентов с точки зрения, как местного, так и системного лечения. Специфичность толстой кишки более вероятна для систем, которые используют природные материалы, которые деградируются бактериальными ферментами толстой кишки.

Поэтому систем на основе биоразрушающихся и биосовместимых полимеров, особенно пищевых полимеров, привлекают особый интерес учёных медиков и фармацевтических компаний. Уровень организации пористой структуры гидрогелей можно контролировать путем изменения

смешанных составов биополимеров, их поперечных связей и способности набухать в различных средах. Путем изменения пористости геля можно достичь эффективности инкапсулирования ЛВ, пищевых ингредиентов (ПИ) и высвобождения этих веществ из гидрогелевых матриц посредством контролируемой набухания и деградации биополимера и диффузии ЛВ.

Известен способ [3] получения СДЛ различных типов, сшитые биокompозитов получают с использованием белков с гиалоурановой кислотой. В процессе получения композита полисахарид и белковый раствор смешивают при умеренных значениях pH с добавлением небольшого количества кислоты и щелочи для сшивания, которые могут быть использованы для приготовления различных типов композиции, таких как мембрана, губка, волокно, труба или микро гранулярная форма и так далее. Однако в данном способе отсутствуют процессы внедрения ЛВ в композицию и условие ее доставки в соответствующих средах и опытах, что создает трудности в оценке качества СДЛ.

Известен система пероральной доставки лекарственных веществ с контролируемым высвобождением в область кишечника на основе интерполиэлектrolитного комплекса (ИПЭК), полученный при взаимодействии и редкоштитой полиакриловой кислоты с сополимером диметиламиноэтилметакрилата и коммерческих поликатионов нейтральных эфиров метакриловой кислоты[4].

В качестве прототипа выбран способ получения СДЛ в виде гидрогелевых микросфер на основе группы биополимеров[5], в соответствие, с которого биосовместимые гидрогелевые микросферы получают изокисленный полисахарид, выбранный из группы, состоящей из хондроитин сульфата, альгинат, гиалуриновая кислота, водорастворимый крахмал и его производные, а также водорастворимые смолы и их производных, и аминсодержащий полимер, выбранный из коллагена, хитозан, их производные и их смеси. Гидрогелевые защитные оболочки согласно данному прототипу могут быть использованы для изготовления гелей в точке назначения и виде матрикса. Использование данных гелей предназначено для замедленное высвобождение стволовых клеток и биологически активных молекул, таких как лекарства и факторы роста. Они также могут быть использованы в качестве матриц для средств регенерации тканей, таких как ткани роговицы.

Таким образом, полученные гидрогелевые микросферы известных способов [4,5] могут быть использованы для изготовления СДЛ. Использование таких систем обладает замедленное высвобождение стволовых клеток и биологически активных молекул, таких как лекарства и факторы роста. Они также могут быть

Преимущественно, в некоторых аспектах, гидрогелиевые микросферы по данному способу могут быть изготовлены в широком диапазоне pH среды, что обеспечивает формирование разнообразных матриц. Изменяя pH, может влиять на пористость, взаимодействие с клетками, а также прозрачность каркасных микросфер.

Недостатком вышеуказанных способов формирования СДЛ заключается в многокомпонентности систем доставки ЛВ, сложности их приготовления и воспроизводимости их формирования, а также использование синтетических полимеров и биополимеров из живых организмов (гиалуроновая кислота, аминсодержащий полимер, выбранный из коллагена, хитозан, их производные и их смеси), которые могут вызвать аллергические реакции организма, что усложняет внедрению в практике СДЛ и сказывается на их цену.

Целью настоящего изобретения является создание пористых биоразлагаемых композиций для пероральную и устойчивую доставку активных ингредиентов в области кишечника из пищевых источников, которые хорошо переносятся людьми (т.е. являются продуктами пищи) и могут доставлять большее количество активного ингредиента и по сравнению с известными композициями, что приведет к существенному улучшению их фармакокинетических параметров. Соответственно, изобретение обеспечивает получению микропористые композиции поперечно сшитых полианионов пектиновых полисахаридов (ПП) в присутствии минеральных ионов с включением гидрофобных белков, в которых может быть введено более 50 мас.% водорастворимого и нерастворимого активного вещества и из которого он может высвобождаться контролируемым образом в кишечном пространстве.

Сущность изобретения заключается в том, что при диспергирования водного раствора полимерного анионного материала (такого как низкометилованный пектин или другие полисахариды с карбоксильными функциональными группами) с гидрофобного, спирторастворимого белка (например зеина) в присутствии ионов многовалентных металлов (например, кальция или цинка) и ЛВ, образуется коацерват в виде высокопористой биоразлагаемой микросферы, в порах которую активные ингредиенты (ЛВ или терапевтические агенты) могут захватываться [6-9]. При прохождении такие микросферы в верхнюю область ЖКТ, где pH среды меньше 1.8 они не набухают и тем самым защищают активные ингредиенты, как только они попадают в области толстого кишечника, где pH больше 6.0, начинают набухать и полисахаридная часть микросфер разрушается под действием ферментов. Эти факторы позволяют контролировать высвобождение включенного активного ингредиента в широких пределах времени.

Согласно некоторым вариантам осуществления, способы приготовления гидрогелиевых микросфер включают в себя, по меньшей мере, некоторые из следующих стадий:

Процессы формирования микросфер в виде гидрогелей на основе биополимеров зеина кукурузы и низкометилированных (НМ) - пектинов различного происхождения, водорастворимые эфиры целлюлозы с инкапсулированным модельным ЛВ-и физико-химических характеристик полученных гидрогелей с целью получения СДЛ стойких к преждевременному высвобождению в верхней части ЖКТ.

Согласно другим вариантам осуществления, один из биополимеров может быть линейным полисахаридом имеющим в своей структуре карбоксильные группы или разветвленным в структуре. Другой биополимер может включать в себя гидрофобный белок.

Согласно другим вариантам осуществления, эта композиция может дополнительно включать в себя ЛВ, выбранную из группы, состоящей из противовоспалительных агентов; антибактериальных агентов, противопаразитарных средств, противогрибковых агентов, противовирусных средств, противоопухолевых средств, анальгетиков, вакцины человеческого гормона роста, инсулиноподобный фактор роста и тому подобное; антигистаминные препараты их комбинаций и производных.

Подходящие биологически активные вещества для использования в настоящем изобретении также включают в себя противовоспалительные агенты, такие как гидрокортизон, преднизолон и тому подобное; антибактериальные агенты, такие как пенициллин, цефалоспорины, бацитрацин и тому подобное; противопаразитарные средства, такие как хлорохин акрихин, и др; противогрибковые агенты, такие как нистатин, гентамицин и др; противовирусные средства, такие как ацикловир, рибавирин, интерфероны и тому подобное; противоопухолевые средства, такие как метотрексат, антитела, фактор некроза опухоли и тому подобное; анальгетики агенты, такие как салициловая кислота, ацетаминофен, ибупрофен, морфин и тому подобное; местные анестетики, такие как лидокаин, бупивакаин, бензокаин и тому подобное; вакцины, таких как гепатит, корь, краснуха, столбняк, полиомиелит, бешенство и тому подобное; центральные системы агенты нервной, человеческого гормона роста, инсулиноподобный фактор роста и как; гормоны, такие как прогестерон, фолликулостимулирующий гормон, инсулин, соматотропные и тому подобное; антигистаминные препараты.

Согласно некоторым вариантам осуществления матричного носителя-СДЛ может включать в себя два или несколько биополимеров. Согласно некоторым вариантам осуществления, на первой фазе биополимеры, используемые в

полимер, имеющий карбоксильные группы и гидрофобный биополимер. Например, первый биополимер может включать в себя линейный полимер или разветвленный полисахарид, из ряда пектиновых полисахаридов и производных целлюлозы. В некоторых примерных вариантах осуществления, этот биополимер включает в себя НМ-пектин полученные из яблок, цитрусовых, подсолнечника и других растительных источников. В некоторых примерных вариантах осуществления, этот биополимер включает в себя НМ-пектин полученные из яблок, цитрусовых, подсолнечника и других растительных источников. В некоторых вариантах осуществления, этот биополимер включает в себя водорастворимые эфиров целлюлозы.

Согласно некоторым вариантам осуществления, второй биополимер, имеющие гидрофобную поверхность способную ассоциироваться с первыми биополимерами данной композиции. В некоторых вариантах осуществления, этот структурный белок содержит как гидрофильные, так и гидрофобные остатки. В некоторых вариантах осуществления, эти остатки взаимодействуют с гидрофобными и/или гидрофильными областями соответственно фармацевтического агента, и/или биополимера первой фазы.

Согласно некоторым вариантам осуществления, эта композиция матричного носителя может дополнительно включать в себя один или несколько дополнительных компонентов, которые могут быть использованы для усиления эффекта, достигаемого посредством применения этой композиции матричного носителя, и обеспечивать дополнительную ценность этому матриксу.

Формирование гидрогелей на основе различных пектинов, карбоксиметилцеллюлозы и зеина.

Процесса формирования и физико-химических характеристик микросфер в виде гидрогелей на основе первого биополимера НМ - пектинов различного происхождения, водорастворимые эфиры целлюлозы гидрофобного второго биополимера - зеина кукурузы с инкапсулированным модельным ЛВ для получения СДЛ стойких к преждевременному высвобождению в верхней части ЖКТ.

В качестве модельного лекарства использовали нестероидный, противовоспалительный препарат пироксикам (РХ). Предусматривалось также провести сравнительную оценку микросфер на основе пектинов разного происхождения (яблок, цитрусовых, корзинок подсолнечника и др.) с зеином в различных соотношениях, как с ионами кальция, так и с ионами цинка.

В работе [6] нами было показано, что ионы Ca^{+2} или Zn^{+2} формируют с НМ-пектинами гидрогели с разными порами, тем самими регулируя содержание ионов металла (Ca^{+2} или Zn^{+2}), можно упорядочить гидрогелевую сетку. Гидрогели на основе НМ- пектинов, формируются посредством ионных поперечных связей металла, включение

зеина в полимерную сетку происходит посредством перекрёстной сшивки, включая водородные связи и гидрофобные взаимодействия между белком и полисахаридом, который позволяет регулировать степени набухания микросфер [7]. Показано, что природа взаимодействия белков с полисахаридами зависит, прежде всего, от структуры биополимеров и условий среды. В зависимости от природы и свойств полисахарида (пектин или карбоксиметилцеллюлоза), гидрогелевые микросферы могут отличаться по структуре [8, 9]. Хорошо сформированные микросферы, в форме шариков, были нами получены с цитрусовым - НМ-9 и высокометилированным яблочным - ВМ-52 пектинами. Показано, что, регулируя содержание ионов металла (Ca^{+2} или Zn^{+2}), можно упорядочить гидрогелевую сетку и получать композиты с оптимальной структурой, высокой степенью инкапсулированные ЛВ и контролируемым выходом в условиях ЖКТ [10,11].

Следует отметить, что в отличие от НМ-пектинов, выделенных из цитрусовых и яблок, пектин подсолнечника отличается наименьшей степенью полидисперсности, низкой молекулярной массой, и преобладанием линейных гомоалактуронанов с небольшим количеством нейтральных сахаров, способных обеспечить оптимальную плотность поперечных сшивок, что в свою очередь приводит к нарушению баланса между эластичностью и желаемой прочностью полимерной композиции. За счёт большого количества поперечных сшивок с ионами двухвалентных металлов подсолнечный пектин способен образовывать более хрупкие гели. Высокое содержание карбоксильных групп будет способствовать сильному электростатическому взаимодействию с протеинами, что, в свою очередь, может привести к утрате гибкости и подвижности полимерной цепи. Плотность поперечных сшивок влияет на степень набухания, механическую прочность и эластичность полимерной цепи. Высокая плотность поперечных сшивок приводит к более высокой механической прочности, но при этом понижается эластичность и набухание, что может вызывать образование хрупких гелей [11]. Поэтому для эффективного использования гидрогелей на основе полисахарида и белков, как носителей ЛВ, необходимо контролировать образование поперечных сшивок.

В другой работе мы использовали НМ-пектин, полученный из корзинки подсолнечника новым динамическим способом гидролиза [12], со следующими характеристиками: содержание галактуроновой кислоты (ГК) в нем 59%; степень этерификации карбоксильных групп ГК в пектине (СЭ) 26% и средневесовая молекулярная масса (M_w) 180 КД, далее именуемый как ПП-26.

Для сравнительного исследования процесса формирования гидрогелевых микросфер использовали пектины: ВМ-яблочный, полученный флэш методом [13], НМ- подсолнечный, НМ-цитрусовый и зеин кукурузы [11]. В табл. 1

Таблица 1

Характеристика пектинов, выделенных из различных источников сырья

Источник сырья	Шифр пектина	(ГА), %	СЭ, %	M _w (кД)	проф иль подач и ЛВ в орган изм, отлич ный от
Цитрусовый, GENUL/200, CP Kelco	ЦПНМ-09	79	9.0	212	
Яблочный, Шахринау-85-1.8	ЯПНМ-38	65	38.0	118	
Яблочный, Муминобад-120-2.0	ЯМВМ-52	71	52.0	134	
Подсолнечный, ПП-85-2	ППНМ-26	69	26.2	180	

КМЦ получали путем карбоксиметилирования целлюлозы, выделенной [8] из низкосортного хлопкового линта тонковолокнистого хлопка. В работе использовали КМЦ со следующими характеристиками: степень замещения - 78, степень полимеризации - 720, растворимость в воде - 98%.

Комплексы с КМЦ получали путем добавления водного раствора КМЦ к 75% раствору зеина, содержащему РХ при перемешивании при комнатной температуре. Полученный комплекс, в виде густого геля, разливали равномерно на стеклянную поверхность для получения пленки и сушили при комнатной температуре до постоянного веса. Высушенную пленку промывали водой для удаления РХ не связанного в комплекс.

Как было показано в предыдущих исследованиях [9-11], пектин с зеином могут образовывать два типа комплексов: первый - посредством электростатического взаимодействия при участии НМ-пектина и ионов двухвалентных металлов, и второй - в результате гидрофобного взаимодействия, преимущественно зеина с ВМ-пектином. В данном случае наблюдается образование первого типа комплекса, при котором, в результате быстрых поперечных сшивок ионов металла с карбоксильными группами высокомолекулярных цепей НМ-пектина, зеин не успевает внедриться в гидрогелевую сетку. В случае 3/КМЦ комплексов можно предполагать, что взаимодействие между биополимерами происходит за счёт межмолекулярных водородных связей.

Применение композиции матричного носителя

Оценка процесса диффузии и кинетики высвобождения активного ингредиента из гидрогелей на основе различных пектинов и зеина.

Описанные здесь композиции матричных носителей могут быть объединены с одним или несколькими фармацевтическими агентами, как описано ниже, с получением фармацевтической композиции/системы доставки, подходящей для введения. Введение может включать в себя любой тип введения, такой как, например, пероральное введение, парентеральное введение, местное введение и т.п. Главным аспектом применения

фармакодинамики классических перорального или парентерального введения низкомолекулярных веществ.

Традиционное введение лекарственных форм характеризуется быстрым и неконтролируемым высвобождением активных компонентов (ЛВ) в организме. Разработка лекарственных форм с направленной доставкой и контролируемым высвобождением ЛВ позволит повысить эффективность, удерживать постоянный уровень их терапевтической концентрации в плазме крови, и, тем самым, открывает возможность использования принципиально новых групп действующих веществ. Как показала практика, такая система СДЛ даст возможность уменьшить курсовую дозу, устранить раздражающее действие и передозировку ЛВ, уменьшить частоту проявлений побочных эффектов.

Для исследования кинетики процесса были приготовлены буферы с pH 1.2 (HCl/ KCl 0.2M) и pH 6.4 (0.2M фосфатный буфер). Высушенные комплексы помещали в диализные мешки в количествах 50 мг, заливали 50 мл буфера pH 1.2 и pH 6.4, помещали в один из емкостей (объемом 900 мл) содержащегося 400 мл соответствующего среды ЖКТ в прибор для определения растворимости ЛВ при 37°C. Через определённые промежутки времени замеряли на спектрофотометре UV1 Thermo Spectronic, (Англия) экстинкцию растворов при 355 нм и по калибровочному графику, построенному по стандартному РХ, определяли количество высвобожденного лекарства (Mt). Общее количество вовлечённого лекарства в гидрогелиевые комплексы (Mo), определяли как описано в работах [9,10].

Для исследования способности СДЛ сдерживать влияние протеаз во время прохождения через верхнюю часть ЖКТ изучалась кинетика выхода РХ, из полученных П/З микросфер, в искусственно созданной среде желудка и кишечника.

13

фузии ЛВ в дальнейшем, кинетические данные обрабатывались, используя степенную зависимость кинетики выхода ЛВ по уравнению Пепасс [15]:

$M_t/M_o = Kt^n$ (2), где, M_t/M_o фракция высвободившегося ЛВ, K константа, t время и n экспонент показывающий механизм транспорта ЛВ из полимерного матрикса: для Фиковской диффузии $n=0.5$; когда $n=1.0$ процесс транспорта подчиняется аномальной диффузии, так называемый Случай II. Это уравнение также может предсказать процессы Супер случая II ($n>1.0$), когда транспорт происходит по механизму нулевого порядка.

Изучение заявленного состава биополимеров с ЛВ в опытах *invitro*, *exvivo* и *in vivo* позволили выбрать оптимальные соотношение компонентов, обеспечивающие дозированное высвобождение ЛВ (например, кинетики выделения РХ по нулевому порядку) в условиях кишечника.

Примеры приготовления композиций матриксных носителей

Согласно некоторым вариантам осуществления, обеспечены способы приготовления описанной здесь композиции матриксного носителя. В некоторых вариантах осуществления, способ, предназначенный для иллюстрации этого раскрытия изобретения, но без ограничения его объема, содержит, по меньшей мере, некоторые из следующих стадий:

1. Приготовление растворов биополимеров, удаление не растворившиеся частицы и микрогелей.

2. Определение точки гелеобразования биополимеров методом турбидиметрии.

3. Введение фармацевтического агента (ЛВ и других ингредиентов), если водорастворимый в водный раствор первого биополимера или нерастворимого в воде ЛВ в спиртовой раствор во второго биополимера.

4. Смешивание и гомогенизация этой системы может принимать во внимание чувствительность этого фармацевтического агента к механическому стрессу. Этот процесс может выполняться при инертной атмосфере с контролем температуры, скорости и времени.

5. Укрепление композиции микросфер носителя может быть достигнуто поддержанием при регулируемой температуре (например, в диапазоне приблизительно 1-37°C) в течение 1-72 часов с добавлением соли многовалентных металлов.

6. Промывка несвязанного (неадсорбированного) фармацевтического агента из гидрогелевых микросфер.

Согласно некоторым вариантам осуществления, порядок стадий приготовления может

Кинетические параметры выхода РХ были рассчитаны по уравнению реакции первого порядка [14]:

$$Q = kt^{1/2} \quad (1),$$

где, Q количество высвободившегося ЛВ, k - константа и t - время. Для оценки механизма диф-

971

14

зависеть от конкретного используемого оборудования и свойств фармацевтического агента и может быть изменён соответственно.

Следующие оптимальные примеры предназначены для иллюстрации этого описания изобретения, но без ограничения его объёма.

Пример 1. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из цитрусовых (GENUL/200, CPKelco) в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:3, содержащему РХ, CaCl_2 , при комнатной температуре. Сформированные комплексы центрифугировали при 6000 об/мин в течение 15 мин, маточники сливали, а осадки трижды промывали дистиллированной водой от непрореагировавших компонентов. Количество несвязанного в комплексы РХ определяли в маточнике и промывных водах на спектрофотометре при 355 нм. Из полученных данных рассчитывали количество РХ, инкапсулированного в комплексы. Для достоверности результатов также определяли содержание РХ в комплексах экстракцией буфером, содержащим: 100 мл 75% этанола, 0.4 г NaOH и 0.5% Твин-20 при 37°C из гидрогелей до и после их высушивания. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П составил 1.35, содержание РХ в геле 70.2% и степень ее набухания в фосфатном буфере (pH 6.4) составил 21.2.

Пример 2. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из цитрусовых (GENUL/200, CPKelco) в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:3, содержащему РХ, ZnSO_4 , при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П в геле составил 1.88, содержание РХ в геле 70.7% и степень ее набухания в фосфатном буфере (pH 6.4) составил 16.1.

Пример 3. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из яблок (Шахринау) в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому

раствору зеина, соотношением 1:3, содержащему РХ, CaCl_2 , при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П в геле составил 1.30,

15

ринау) в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:3, содержащему РХ, ZnSO_4 , при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П в геле составил 1.31, содержание РХ в геле 61.9% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составил 10.9.

Пример 5. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из яблок (Муминобад) в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:5, содержащему РХ, CaCl_2 , при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П составил 2.63, содержание РХ в геле 54.1% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составил 32.2.

Пример 6. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из яблок (Муминобад) в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:5, содержащему РХ, ZnSO_4 , при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П составил 2.70, содержание РХ в геле 77.1% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составил 22.6.

Пример 7. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из корзинки подсолнечника в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:5, содержащему РХ, CaCl_2 , при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П составил

содержание РХ в геле 59.8% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составил 18.9.

Пример 4. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из яблок (Шах-

16

1.96, содержание РХ в геле 55.8% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составил 5.3.

Пример 8. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из корзинки подсолнечника в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:5, содержащему РХ, ZnSO_4 , при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П составил 2.27, содержание РХ в геле 57.8% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составил 4.0.

Пример 9. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) со степенью замещения 78% в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/КМЦ комплексы формировались путём постепенного добавления раствора КМЦ к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:1.6, содержащему РХ при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/КМЦ составил 2.6, содержание РХ в геле 30.0% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составил 48.57.

Пример 10. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) со степенью замещения 78% в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/КМЦ комплексы формировались путём постепенного добавления раствора КМЦ к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1.3:1, содержащему РХ при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристике гидрогелевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/КМЦ составил 1.26, содержание РХ в геле 27.0% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составил 27.0.

Сравнительная характеристика полученных гидрогелей: выход, степень набухания, содержание инкапсулированного РХ и количество несвязанного зеина в гидрогелях приведены в зависимости от содержания и вида ионов металлов приведена в табл. 2.

Таблица 2

Выход продуктов в процессе формирования гидрогелевых микросфер на основе зеина, пектинов и КМЦ с инкапсулированным РХв зависимости от содержания и вида ионов металлов

Примеры	Тип пектина	З/П в геле	Выход продуктов		Степень набухания (S)	Содержание РХ, % в геле
			Гидрогель, %	Пектин несвязанный, %		
1	ЦПНМ-09 Ca ²⁺	1.35	57.36	24.0	21.25	70.2
2	ЦПНМ-09 Zn ²⁺	1.88	75.97	9.5	16.17	70.7
3	ЯПНМ-38 Ca ²⁺	1.30	87.18	3.6	18.94	59.8
4	ЯПНМ-38 Zn ²⁺	1.31	92.32	2.1	10.95	61.9
5	ЯПВМ-52 Ca ²⁺	2.63	36.36	62.0	32.23	54.1
6	ЯПВМ-52 Zn ²⁺	2.70	26.88	72.0	22.62	77.1
7	ППНМ-26 Ca ²⁺	1.96	60.87	39.0	5.30	55.8
8	ППНМ-26 Zn ²⁺	2.27	65.38	34.0	4.00	57.8
9	КМЦ-78	2.60	45.50	-	48.57	30.0
10	КМЦ-78	1.26	22.07	-	27.34	27.0

Из данных табл.2 следует, что с высоким выходом формировались микросферы с НМ-яблочным (87-92%) и с низким выходом микросферы с НМ-цитрусовым пектином (55-72%). В процессе формирования гидрогелей часть зеина (13.9-17.8%) была вытеснена из реакционной среды, и осаждалась на дне центрифужных пробирок в виде желтого осадка.

Выход гидрогелей с НМ-подсолнечным пектином составил 60-65%, хотя весь зеин участвовал в формировании комплекса. Однако 34-39% пектина не включилось в формирование гидрогеля и удалялось при промывке водой.

При замене ионов Ca²⁺ на ионы Zn²⁺ выход микросфер с НМ-цитрусовым пектином несколько увеличился, в результате уменьшилось количество желтого осадка и непрореагировавшего пектина. Выход гидрогелей с яблочным пектином ЯП ВМ-52, независимо от соотношения зеина и пектина (З/П), был значительно ниже (36-37%), так как большая часть пектина не участвовала в формировании геля.

Гидрогели на основе НМ-подсолнечного пектина, в отличие от гидрогелей, полученных из других источников сырья [11], были однородные по структуре, при промывке водой на дне центрифужных пробирок не образовывались осадки желтого цвета. Относительно низкий выход комплекса в данном случае связан с вытеснением пектина из гидрогелевых микросфер, что свидетельствует о формировании второго типа комплекса [10], в результате гидрофобного взаимодействия между пектином и зеином.

Из данных табл.2 следует, что с увеличением содержания КМЦ выход комплексов заметно уменьшается от 48.57% до 27.34%, степень набухания падает (от 48.57% до 27.34%). Можно предположить, что комплекс с высокой степенью набухания будет быстрее высвобождать лекарственное средство в условиях желудочно-

кишечного тракта, а комплексы с низкой степенью набухания будут сдерживать высвобождение РХ в кишечном пространстве. В то же время, при всех выбранных соотношениях З/КМЦ степень связывания РХ зависит от доли зеина в комплексе и при повышении содержания зеина усиливается от 27 до 47%.

Степень набухания комплексов изменялась по возрастанию гидрофильности пектиновых цепей в ряду: ВМЯП > НМЦП > НМЯП > НМПП (табл.3). Увеличение доли пектина не влияло на выход комплексов, однако это привело к заметному повышению их степени набухания. Степень набухания гидрогелей сформированных с ВМ-яблочным и НМ-цитрусовым пектинами была на порядок выше, чем у гидрогелей с НМ-подсолнечным и НМ-яблочным пектинами, в зависимости от доли полисахарида в комплексе.

Степень набухания гидрогелей представляет особое значение при изучении кинетики высвобождения ЛВ в ЖКТ: высокая степень набухания будет способствовать преждевременному высвобождению ЛВ, что приводит к нежелательной потере лекарств на стенках желудка. Комплексы с низкой степенью набухания будут длительное время сдерживать уровень ЛВ, способствуя терапевтической

эффективности препарата. Предполагается, что комплексы с пектином подсолнечника будут проявлять кинетику постепенного высвобождения ЛВ в ЖКТ, что представляется важным при создании носителей ЛВ, стойких к действию желудочной кислоты.

19

исключая энтальпийные факторы: высокая степень полидисперсности, высокое содержание звеньев галактуроновой кислоты. Как показала сравнительная оценка, по основным характеристикам: степень инкапсулирования ЛВ, степень набухания, механическая прочность, гидрогели с пектином подсолнечника несколько схожи с гидрогелями, полученными с яблочным пектином ЯП НМ-38.

Ранее было показано [7-10], что хотя выход микросфер на основе яблочного НМ-пектина заметно уменьшается с увеличением доли зеина в комплексе, в то же время количество инкапсулированного ЛВ увеличивается. Однако, по сравнению с микросферами, полученными на основе ЦП НМ-9 и ЯП НМ-38 пектина, выход микросфер и содержание РХ у подсолнечного ПП НМ-47 пектина не зависит от количества зеина в комплексе. Эти отличия, как установлено, связаны с особенностями структуры полисахарида, способного формировать с ионами металла сшитые гидрогели и образовывать с зеином коацерваты, способные захватывать большее количество ЛВ.

Большое количество поперечных сшивок пектина подсолнечника с ионами металла привело к образованию хрупких гелей с пониженной эластичностью, что явилось причиной относительно низкой степени связывания с ЛВ. Однако следует учитывать, что заметный вклад в связывание пектина и протеина, адсорбцию ЛВ в гидрогеле могут вносить и другие факторы – водородные связи, гидрофобные взаимодействия и др. В случае З/КМЦ комплексов взаимодействие между биополимерами происходит за счёт межмолекулярных водородных связей.

В результате проведённых исследований разработаны гидрогелевые микросферы на основе природных биополимеров, которые могут быть использованы как системы носителей лекарственных препаратов. Показано, что используя ионогенные полисахариды разного происхождения (пектины различного происхождения и КМЦ) как основа и водонерастворимых белков как гидрофобный участок можно формировать гидрогелиевые микросферы с определённым составом, степени набухания в условиях ЖКТ и степенью насыщения лекарством заданными фармакокинетическими характеристиками.

Фармакокинетические испытания полученных СДЛ

Использование полученных гидрогелиевых микросфер на основе полисахаридов и гидрофобных белков в качестве СДЛ подтверждается следующими графическими

Гидрогели на основе цитрусового пектина отличались высоким содержанием инкапсулированного РХ по сравнению с другими пектинами. Пониженная степень связывания РХ в микросферах с НМ-пектином подсолнечника, по сравнению с цитрусовым, связана с особенностями структуры полисахарида, не

971

20

материалами, на которых представлено кинетика высвобождения ЛВ из заявленных составов гидрогелей в опытах *in vitro*:

На Фиг. 1- Кинетика высвобождения РХ из З/П микросфер на основе цитрусового пектина НМ-38 с ионами Ca^{2+} и Zn^{2+} в условиях желудка (1-3 часа при pH 1.2) и кишечника (3-16 часа при pH 6.4).

На Фиг.2 -Кинетика высвобождения РХ из З/П микросфер на основе яблочного пектина НМ-52 Ca^{2+} в условиях желудка (до 3 часов, pH 1.2) и кишечника (от 3 до 36 часов, pH 6.4).

На Фиг.3 -Кинетика высвобождения РХ из З/П микросфер на основе яблочного пектина НМ-38 с ионами Ca^{2+} и Zn^{2+} в условиях желудка (до 3 часов, pH 1.2) и кишечника (от 3 до 36 часов, pH 6.4).

На Фиг.4 – Кинетика выхода РХ из комплексов З/КМЦ в условиях желудка.

На Фиг.5- Кинетика выхода РХ из комплексов З/КМЦ в условиях желудка

Кинетика высвобождения РХ из З/П микросфер с ионами Ca^{2+} и Zn^{2+} (полученные согласно примерам 1 и 2) в условиях, моделирующих среду желудка и кишечника представлена на Фиг 1 [14]. Известно [2,16], что ЛВ, адсорбированный на геля пектата кальция, практически полностью высвобождается за короткий период времени. Видно, что добавление зеина - гидрофобного полимера, несколько замедляет выход модельного вещества-РХ. Замена ионов Ca^{2+} на Zn^{2+} приведёт к почти одинаковому выходу ЛВ за первые 3 часов в условиях желудка, но при изменении среды на кишечную (pH 6.4) замедляет выход ЛВ в два раза.

Полученные результаты подтверждают представленную выше точку зрения: из микросфер с низким соотношением З/П (0.33), т.е. где доля пектина больше с ионами Ca^{2+} , высвобождалось около 50 вес % РХ за 6 часов инкубации в среде ЖКТ, а оставшееся ЛВ при этих условиях, высвобождалось по линейному механизму (кинетика нулевого порядка). Это говорит о том, что гидрогели формировались как за счёт поперечных связей пектин- Ca^{2+} , так и за счёт гидрофобных взаимодействий пектина с зеином [14].

С увеличением зеина в составе полимерной композиции (З/П 1.5 и 2.0) диффузия ЛВ замедляется и только 20 вес. % РХ десорбируется за тот же промежуток времени, остальная часть из микросфер высвобождалась по линейному механизму. Несмотря на высокое содержание зеина, гидрогели не подвергались воздействию фермента, присутствующего в составе исследуемой среды [14]. При инкубации гидрогелевых микросфер в фосфатном буфере, pH 6.4, соответствующего среде толстого отдела кишечника, наблюдаются небольшие изменения

только в начальном периоде времени и кинетические кривые имеют линейный характер, затем изменяются со временем. Количество высвободившегося ЛВ выше, чем при pH 1.2 и достигает 55-75% от общего количества адсорбированного ЛВ.

Для сравнительной оценки степени устойчивости комплексов была исследована

21

более линейной, чем с цитрусовым пектином. Хотя первые обладали меньшей способностью к насыщению лекарством, они сдерживали почти 95 вес % РХ в условиях верхнего ЖКТ. Следует отметить, что кинетика высвобождения РХ в данном случае зависела не от соотношения З/П, а от типа пектин-зеинового взаимодействия, в котором участвуют боковые гидрофобные остатки зеина и араби-ногалактуронана в составе пектиновых полисахаридов. Подобные гидрофобные системы способны препятствовать полной деградации наружной оболочки комплекса в течение периода тестирования[17].

Кинетика высвобождения РХ из З/П комплексов с низкомолекулярным яблочным пектином НМ-38, сформированных ионами Ca^{2+} и Zn^{2+} , представлена на рис.3. По сравнению с ранее изученными комплексами, включающими высокомолекулярные пектины, кинетика выхода ЛВ из данной системы имела прямолинейный характер, что соответствует кинетике выхода по механизму нулевого порядка. Общее количество РХ высвобожденное из гидрогелевых микросфер с ионами кальция составляло менее 40 %, а в случаи с ионами цинка всего 20 вес % после 8 часовой инкубации в условиях, моделирующих среду ЖКТ[17]. Таким образом, гидрогели с низкомолекулярным НМ-40 яблочным пектином, по сравнению с гидрогелями на основе цитрусового пектина, пролонгировали выход ЛВ до 48 и более часов, что является важным для доставки большинство ЛВ в кишечник. Зависимость фракции вышедшего ЛВ из гидрогелей от корня квадратного времени имеет линейный характер, с коэффициентами корреляции 0.86-0.99. Это указывает на диффузионный характер процесса высвобождения активного ингредиента из гидрогелевых микросфер на основе данного пектина.

Как мы и предполагали, из комплекса с высокой степенью набухания (З/КМЦ - 1.6:1) в первые 5 час. инкубации при pH=1.2 высвобождается 30% РХ, затем идёт постепенное высвобождение РХ, которое к 25 часам составило 45-50%. При повышении доли КМЦ (соотношение З/КМЦ 2.60 и 1.26) в условиях, моделирующих среду желудка, за тот же

кинетика выхода РХ из комплексов, полученных с ВМ- и НМ-яблочным пектинами. Кинетика выхода РХ из З/П комплексов с высокомолекулярным ВМ-52 яблочным пектином представлена на Фиг.2. Степень высвобождения РХ из этих комплексов, образованных ионами Ca^{2+} , оказалась

971

22

промежуток времени высвобождается только 10% РХ, с последующим постепенным высвобождением в течение всего периода инкубации в данной среде и, как видно из рис. 4, подчиняется кинетике нулевого порядка[8].

На Фиг.5 представлена кинетика выхода РХ из З/КМЦ комплексов в условиях, моделирующих среду кишечника (pH=6.4). В данном случае наблюдается быстрое высвобождение РХ из комплекса с высоким содержанием зеина и степенью набухания (З/КМЦ - 2.60). При понижении доли зеина и повышении КМЦ, происходит постепенное высвобождение РХ в течение всего периода инкубации, достигая 10% за 25 ч[8].

В практике измерения высвобождения лекарственного средства с использованием условий *in vitro* не всегда точно имитируют условия, в которых система доставки подвергается воздействию в *in vivo* систем. Например, после перорального введения микрочастицы контактируют с жидкостями, содержащими ферменты, желчную кислоту и живую ткань в отличие от имитируемой жидкостью *in vitro* эксперимента. Ситуация может быть сложной в разных индивидуальных и физиологических условиях.

Следовательно, нами в работе [18] кинетику высвобождения ЛВ изучали в условиях *ex vivo* путем инкубации содержимого кишечника вместе с СДЛ. Набухшие комплексы массой 50-100 мг, в зависимости от дозы ЛВ, заливал в диализные мешки с содержимым кишечника в фосфатном буфере, и помещали в аппарат, предназначенный для изучения растворения лекарственных средств (DT 600 HH Dissolution Tester LB-550, ERWEKA, Germany). Аппарат снабжался на линии с проточным спектрофотометром (UV spectrophotometers UA-5 ISCO, USA) и заполнялся фосфатным буфером (400 мл) при 37 °C. Через определенные промежутки времени замеряли экстинкцию растворов при 337 нм и по калибровочному графику, построенному по стандартному РХ, определяли количество высвобожденного ЛВ. Рассчитанные параметры кинетики транспорта РХ из зеин-пектиновых микросфер приведены в табл. 3.

Таблица 3.

Физико-химические параметры зеин-пектиновых гидрогелевых микросфер в опытах *invitro* и *exvivo*.

Опыт	СДЛ	Содержание РХ в гидрогеле, мг/г	Степень набухания	$K_h 10^2, \text{ч}^{-1/2}$	R^2	n, (релиз экспонента)
In Vitro	З/ЯПНМ-38	204.0	6.70	16.6	0.996	0.56
Ex Vivo	З/ЯПНМ-38	158.0	7.22	6.00	0.980	0.61

In Vitro	3/ЦПНМ-09	139.0	16.00	31.0	0.990	0.22
Ex Vivo	3/ЦПНМ-09	120.0	13.72	4.90	0.986	0.21

Сравнивая время выхода ЛВ в опытах *in vitro* и *ex vivo*, можно наблюдать диффузионный транспорт ЛВ из гидрогелей, вследствие релаксационного механизма полимерной сетки (пектиновые участки), вызванного средой

23

Для микросфер на основе зеина и цитрусового пектина оно составило 17 ч *in vitro* и 36 ч *ex vivo*, соответственно. Значительная протяженность во времени объясняется эффектом набухания ионогенной части полимерной сетки в хорошем (гидрофильный - буферный раствор, *in vitro*) и плохом (гидрофобный - смесь буферного раствора и содержимое кишечника, *ex vivo*) растворителях.

Была также проведена [19] сравнительная оценка кинетики высвобождения лекарственного средства из композиций гидрогелей пектин/зеин, полученных из различных пектинов и кукурузного зеина в условиях *invitro*, *exvivo* и *invivo*. Кинетика скорости высвобождения пироксикама и его механизма диффузии изучалась с различными формами (таблетка, гидрогелевые микросферы и гидрогель в пакете для диализа) на крысах. Показано, что кинетика высвобождения лекарств была одинаковой для РХ в таблетке и гидрогеле в диализном мешке, но с константами скорости, отличающиеся на порядок, описываемыми уравнением первого порядка в *in vitro* условиях; в условиях *ex vivo* и *in vivo*, транспортный механизм благоприятствует скорости высвобождения лекарственного средства нулевого порядка. Гидрогель в высушенной форме демонстрировал очень замедленное высвобождение лекарственного средства по сравнению с ранее изученными системами контролируемого высвобождения в виде набухшего гидрогеля.

Подходящие биологически активные вещества для использования в настоящем изобретении также включают в себя противовоспалительные агенты, такие как гидрокортизон, преднизолон и тому подобное; антибактериальные агенты, такие как пенициллин, цефалоспорины, бацитрацин и тому подобное; противопаразитарные средства, такие как хлорохин акрихин, и др; противогрибковые агенты, такие как нистатин, гентамицин и др; противовирусные средства, такие как ацикловир, рибавирин, интерфероны и тому подобное; противоопухолевые средства, такие как метотрексат, антитела, фактор некроза опухоли и тому

растворителя: если 50% РХ высвобождалось из микросфер на основе зеина и яблочного пектина в опытах *in vitro* за 35 ч, то время выхода РХ в опытах *ex vivo* достигало 48 ч. Для микросфер на основе зеина и цитрусового пектина оно

971

24

подобное; анальгетики, такие как салициловая кислота, ацетаминофен, ибупрофен, морфин и тому подобное; местные анестетики, такие как лидокаин, бупивакаин, бензокаин и тому подобное; вакцины таких как гепатит, корь, краснуха, столбняк, полиомиелит, бешенство и тому подобное; центральные системы агенты нервной, человеческий гормон роста, инсулиноподобный фактор роста икак; гормоны, такие как прогестерон, фолликулостимулирующий гормон, инсулин, соматотропины и тому подобное; антигистаминные препараты.

На основании кинетических исследований, установлен процесс формирования зеин-пектиновых гидрогелей с различными пектинами, выявлен механизм процесса высвобождения модельного ЛВ из них, путем изменения типа и соотношения биополимеров, что позволяет регулировать скоростью диффузии и является необходимым при создании матричных пролонгированных систем для контролируемого высвобождения ЛВ. Оценка кинетики высвобождения лекарств в экспериментах в условиях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo* на животных продемонстрировало, что пектин зеиновые гидрогели, изготовленные из НМ-пектина и ВМ яблочного пектина, является очень подходящим в качестве систем с контролируемым высвобождением для фармацевтически активных лекарств в кишечную пространство ЖКТ. По сравнению с традиционной формой таблеток, ЛВ включенные в микросферы поддерживал дозу препарата в кишечнике в течение 3 дней.

Таким образом, разработка новых лекарственных форм в виде гидрогелевых микросфер, полученных на основе биodeградируемых полимеров природного происхождения, будет способствовать развитию новых направлений в фармацевтике. Лекарственные формы, встроенные в системы транспорта, устраняют многие недостатки существующих препаратов – низкую растворимость, быструю сорбцию в организме и способствуют повышению биодоступности и терапевтической эффективности лекарств, снижая их побочное действие.

ФОРМУЛА ИЗБРЕТЕНИЯ

1. Способ формирования гидрогелевых микросфер для создания систем доставки лекарственных веществ, включающий приготовление биосовместимых гидрогелиевых микросфер из карбоксила содержащийся полисахарид, отличающейся тем, что получают микропористые композиции поперечно сшитых полианионов в присутствии минеральных ионов с включением гидрофобных белков, в которых

может быть введено более 50 мас.% водорастворимого и нерастворимого активного вещества, и из которого он может высвободятся контролируемым образом в кишечном пространстве.

2. Способ по пункту 1, отличающийся тем, что в качестве полианиона используют низкометилированные (НМ) пектины.

3. Способ по пункту 1, отличающийся тем, что в качестве полианиона используют водорастворимый и нерастворимый активный компонент, и из которого он может высвободятся контролируемым образом в кишечном пространстве.

воримые эфиры целлюлозы.

4. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в качестве гидрофобного белка в систему вводят зеин из кукурузы.

5. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в качестве гидрофобного белка в систему вводят любой гидрофобный белок.

6. Способ по пункту 1, **отличающийся**

тем, что в качестве ионов металла включают кальция и/или цинка.

7. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в системы доставки лекарства (СДЛ) вводят противовоспалительные, антибактериальные, противопаразитарные, противогрибковые, противоопухолевые агенты, а также вакцины и гормоны.

Компьютерный набор: Фатхуллаева М.С.

Заказ

Тираж

Подписное

Национальный патентно-информационный центр РТ734042, г. Душанбе,
ул. Айни, 14а