

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

М. Масл

Масленникова Мария Сергеевна

**Разработка состава и технологии производства твёрдой лекарственной
формы с ресвератролом**

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
кандидат фармацевтических наук, доцент
Соловьёва Наталья Леонидовна

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Свободные радикалы и окислительный стресс	15
1.2. Антиоксиданты.....	16
1.2.1. Классификация. Механизм действия	17
1.3. Ресвератрол.....	21
1.3.1. Источники. Физико-химические свойства	21
1.3.2. Биосинтез и метаболизм ресвератрола.....	22
1.3.3. Фармакологическое действие	24
1.3.3.1. Противовоспалительный и иммуномодулирующий эффекты	25
1.3.3.2. Заболевания сердечно-сосудистой системы	26
1.3.3.3. Онкологические заболевания.....	28
1.4. Биодоступность	30
1.4.1. Проблемы низкой биодоступности и способы её повышения.....	30
1.4.2. Солюбилизация	31
1.4.3. Поверхностно-активные вещества	32
1.4.3.1. Полисорбаты.....	34
1.4.3.2. Полуксамеры.....	36
1.4.3.3. Циклодекстрины.....	38
1.5. Выводы к главе 1	40
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	41
2.1. Действующее вещество. Ресвератрол	41
2.2. Вспомогательные вещества	42
2.3. Определение физико-технологических параметров разработанных композиций и показателей качества таблеток	45
2.4. Определение стабильности разработанных композиций	49
2.5. Определение стабильности, сроков годности разработанных таблеток с ресвератролом	50

2.6. Выводы к главе 2	51
ГЛАВА 3. ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ	
КОМПОЗИЦИЙ РЕСВЕРАТРОЛА С СОЛЮБИЛИЗАТОРАМИ	52
3.1. Приготовление стандартных растворов для исследования и расчеты	52
3.2. Определение спектральных характеристик ресвератрола в различных буферах	57
3.3. Выбор общего растворителя.....	63
3.3.1. Приготовление рабочих композиций	64
3.3.2. Определение рабочей концентрации стабилизаторов	65
3.3.3. Состав композиций ресвератрола с различными стабилизаторами	67
3.4. Исследование композиций ресвератрола.....	71
3.4.1. Кинетика растворения ресвератрола и композиций	72
3.4.2. Исследование стабильности композиций	76
3.5. Выводы к главе 3	81
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ	
С РЕСВЕРАТРОЛОМ И ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ КАЧЕСТВА.....	82
4.1. Теоретическое обоснование выбора лекарственной формы и описание целевого профиля качества лекарственного препарата.....	82
4.2. Разработка таблеток с ресвератролом	83
4.2.1. Выбор вспомогательных веществ	83
4.2.2. Результаты исследований физико-технологических характеристик таблеточных смесей	85
4.3. Определение сроков годности и установление совместимости вспомогательных веществ	91
4.3.1. Определение сроков годности разработанных таблеток	91
4.3.2. Установление совместимости вспомогательных веществ с ресвератролом	92
4.4. Выводы к главе 4.....	94
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	96
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	98

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	99
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	100
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	104
ПРИЛОЖЕНИЕ А	123
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	124
ПРИЛОЖЕНИЕ В	125
ПРИЛОЖЕНИЕ Г.....	136
ПРИЛОЖЕНИЕ Д	138
ПРИЛОЖЕНИЕ Е	139
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж	140
ПРИЛОЖЕНИЕ И.....	142

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Пероральный путь введения лекарственных препаратов связан с необходимостью решения таких проблем, как недостаточная растворимость и кишечная проницаемость некоторых фармацевтических ингредиентов, которые в результате приводят к уменьшению всасывания лекарственных средств и, как следствие, его низкой биодоступности.

Биодоступность представляет собой ключевой показатель, который определяет скорость и степень всасывания активного вещества в кровь. Таким образом, задача по улучшению данного показателя является одной из важных в области фармацевтической технологии, особенно для нерастворимых веществ в твердых лекарственных формах.

Полифенольные соединения, в число которых входят такие широко распространенные группы растительных биологически активных веществ, как флавоноиды, танины, фенолокислоты, стильбены и др., обладают широким спектром фармакологической активности и являются перспективными для изучения с клинической точки зрения.

Ресвератрол (3,5,4'-тригидрокси-транс-стильбен) – стильбен, по биологической активности являющийся фитоалексином, естественным образом вырабатывается некоторыми растениями как реакция на патогенную атаку бактерий или грибов. Механизм действия ресвератрола связывают с его сильным антиоксидантным эффектом, что играет важную роль в борьбе с заболеваниями, вызываемыми окислительным стрессом. Биологически активные добавки к пище и пищевые продукты, в состав которых входит ресвератрол, давно исследуют для профилактики и лечения сахарного диабета.

Однако из-за низкой растворимости пероральный приём ресвератрола малоперспективен. Поэтому одной из актуальных задач фармацевтической технологии является разработка твердой лекарственной формы (далее – ЛФ),

содержащей в качестве основного действующего вещества ресвератрол с улучшенной растворимостью. Возможным путем решения данной проблемы может стать введение солюбилизаторов - представителей групп циклодекстрины, полисорбаты, полуксамеры.

Степень разработанности темы исследования

Выбранным объектом исследования является ресвератрол. На сегодняшний день на фармацевтическом рынке отсутствуют лекарственные препараты с ресвератролом. Но есть биологически активные добавки к пище, включающие ресвератрол, и ведутся его исследования *in vivo* и *in vitro*.

Результаты известных на сегодняшний день исследований свидетельствуют о перспективах разработки лекарственных препаратов с ресвератролом. Исследуемый полифенол обладает нейропротекторным, гипогликемическим и гиполипидемическим действием, снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, проявляет противоопухолевую активность и перспективен для борьбы с раком пищевода и молочной железы. Поэтому разработка твёрдых лекарственных форм в виде таблеток, содержащих ресвератрол и обеспечивающих его быструю растворимость, является актуальной задачей. Исследования по созданию лекарственного препарата с ресвератрол в отечественной практике не проводились.

Цель и задачи исследования

Цель данной диссертации - разработка состава и технологии производства твердой лекарственной формы с ресвератролом, обладающим высокой растворимостью.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Обосновать на основе литературных данных возможность получения твёрдой лекарственной формы с ресвератролом, используя метод солюбилизации для улучшения его растворимости;
2. Разработать и исследовать физико-технологические свойства самодиспергирующейся композиции ресвератрола с солюбилизаторами – представителями групп циклодекстрины, полоксамеры, полисорбаты. Дать оценку стабильности композиции для определения необходимости введения в состав стабилизаторов;
3. Обосновать выбор вспомогательных веществ с учётом их физико-химических характеристик и разработать состав стабильной твёрдой ЛФ с ресвератролом в составе самодиспергирующейся композиции;
4. Предложить оптимальную технологию получения твердой ЛФ с ресвератролом в составе разработанной самодиспергирующейся композиции, а также разработать и валидировать количественное определение ресвератрола в разработанной ЛФ;
5. Отработать методики анализа, исследовать показатели качества полученной твёрдой лекарственной формы с ресвератролом,
6. Изучить стабильность разработанной ЛФ, установить сроки годности и условия хранения.

Решение задач осуществлялось на основе данных научной литературы и полученных результатов экспериментальных исследований.

Научная новизна

Получена оригинальная твёрдая ЛФ с ресвератролом, обладающая высокими биофармацевтическими показателями - таблетки, содержащие комплекс ресвератрола с метил-бета-циклодекстрином.

Разработаны и валидированы методики для оценки показателей качества таблеток, содержащих самодиспергирующуюся композицию ресвератрола с метил-бета-циклодекстрином.

Изучена стабильность разработанных композиций ресвератрола с метил-бета-циклодекстрином и твердой лекарственной формы, содержащих данную композицию, в условиях «ускоренного» и естественного хранения. На основе этих данных установлен срок годности и условия хранения разработанного лекарственного средства.

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе проведенной работы изучены литературные данные о применении ресвератрола как антиоксидантного средства для профилактики и лечения, в том числе в составе комплексной терапии заболеваний, вызываемых окислительным стрессом. Но в связи с низкой растворимостью ресвератрола возникают ограничения в его полномасштабных исследованиях и дальнейшей разработке лекарственных форм для перорального приема.

Таким образом, теоретическую значимость имеют представленные в работе результаты изучения солюбилизаторов на растворимость ресвератрола. Полученные самодиспергирующиеся композиции ресвератрола с представителями групп циклодекстринов, полисорбатов и полиаксомеров, использованных в качестве солюбилизаторов, подтверждают возможность разработки лекарственных средств с низкой растворимостью для перорального приема. В ходе исследования предложена рецептура и технология получения стабильной твердой лекарственной формы с ресвератролом и метил-бета-циклодекстрином, удовлетворяющей требованиям ГФ РФ XV изд.

Описанный в работе подход может служить теоретической основой для разработки твердых ЛФ с субстанциями, обладающими низкой растворимостью.

Разработан проект нормативной документации (проект НД) на лекарственный препарат «Таблетки с ресвератролом, 60 мг». Результаты разработки и исследований опубликованы в виде научных статей, тезисов и докладов на научных конференциях. Результаты работы внедрены в учебный процесс на кафедре фармацевтической технологии образовательного

департамента Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Методология и методы исследования

Методологической базой настоящего исследования стали работа отечественных исследователей и зарубежных ученых, посвященных созданию твердых лекарственных форм с улучшенной растворимостью субстанций, относящихся по биофармацевтической классификации ко 2 и 4 группам, т.е. обладающих низкой растворимостью.

Методология исследования заключалась в последовательной реализации этапов фармацевтической разработки согласно современным международным рекомендациям ICH Q8 «Фармацевтическая разработка»: выборе действующего вещества, разработке состава и технологии готовой лекарственной формы, выборе упаковки, оценке стабильности.

Настоящая работа выполнена с учетом требований ГФ РФ XV изд. и Фармакопеи Евразийского экономического союза (ЕАЭС), а также в соответствии с рекомендациями и правилами Совета Евразийской экономической комиссии (ЕЭК).

Для анализа таблеток, содержащих ресвератрол, применялись фармакопейные методы и методики, разработанные в процессе исследования. Для обеспечения качества была разработана методика для количественного определения активного вещества в таблетках, использовались методы спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием (ВЭЖХ-УФ), а также газовой хроматографии (ГХ).

Статистическую обработку экспериментальных данных делали с использованием программы Microsoft Office Excel. Приводимые экспериментальные данные представляют собой среднее по результатам трех независимых измерений или приводятся в виде среднее $\pm$ ошибка среднего.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты анализа и обобщения литературных данных о возможности создания ресвератрола в виде твердой лекарственной формы и обладающего улучшенной растворимостью с применением метода солюбилизации;
2. Результаты разработки и изучения физико-технологических характеристик самодиспергирующейся композиции с ресвератролом и солюбилизаторами, а так же выбор вспомогательных веществ для создания стабильной лекарственной формы;
3. Результаты выбора вспомогательных веществ для разработки рецептуры стабильной твёрдой ЛФ с ресвератролом в составе самодиспергирующейся композиции;
4. Результаты обоснования технологии получения твердой ЛФ с ресвератролом в составе самодиспергирующейся композиции;
5. Результаты исследований показателей качества и стабильности полученной твердой ЛФ с ресвератролом.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, пунктам 3, 4, 5.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов обусловлена необходимым объемом экспериментального материала, однородностью выборки объектов эксперимента, применением современных методов исследования (спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, ВЭЖХ, испытание на растворение и однородность дозированных единиц). Все

разработанные в ходе проведения исследования методики количественного определения ресвератрола валидированы в соответствии с актуальными нормативными требованиями, применены методы математической статистики. В ходе экспериментов было использовано сертифицированное и поверенное оборудование. Результаты экспериментальных исследований сопоставлены с данными научной, технической и справочной литературы.

Материалы научных исследований по теме диссертации представлены на конференциях: Материалы научно-практической конференции с международным участием "Спортивное питание и спортивная медицина" (1-2 июня 2015 г., Москва); XXIII Российский Национальный конгресс «Человек и лекарство» (2016, г. Москва); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы современной фармацевтической технологии» (29 апреля 2016 г.), проводимая на базе Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолГМУ Минздрава России; Материалы к конференции, проводимой в рамках Школы молодых ученых «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний» (23-25 ноября 2016, г. Москва); XXIV Российский Национальный конгресс «Человек и лекарство» (2017, г. Москва); III Международная научно-практическая конференция «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (2024, г. Томск).

Апробация результатов диссертации состоялась на кафедре фармацевтической технологии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 12 декабря 2024 года протокол №6.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в участии на каждом этапе проводимых научных исследований: от постановки задач и их реализации до обсуждения результатов в научных публикациях. Диссертантом лично проведены следующие исследования: разработаны составы композиций с ресвератролом,

соллюбилизаторами и вспомогательными веществами; разработаны составы таблеток с ресвератролом и определены их показатели качества; проведена обработка результатов при обосновании состава лекарственной формы и технология производства таблеток; проведено научное обоснование и обобщение всех полученных результатов исследований. Полученные результаты изложены автором в виде диссертации и автореферата, публикаций в рецензируемых изданиях.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 17 работ, в том числе 3 в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus; 5 иных публикаций по теме исследования; 9 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты работы внедрены в учебный процесс на кафедре фармацевтической технологии образовательного департамента Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Акт внедрения №488 от 10.09.2024 г.

Научно-практические результаты исследования внедрены в работу на опытно-промышленном производстве ООО «В-МИН»:

- лабораторный регламент на производство таблеток с ресвератролом (акт о внедрении от 07 апреля 2025 года);

- НД на качество «Таблетки с ресвератролом, 60 мг».

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России и является фрагментом исследования по теме: «Развитие научных и научно-методических основ, базовых и инновационных подходов при разработке, внедрении и применении лекарственных средств» (номер государственной регистрации 01.2.012.61653).

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 144 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (главы 2-4), общих выводов, списка условных обозначений и сокращений, списка литературы из 180 источников, включающих 128 на иностранных языках, и приложений. Работа иллюстрирована 33 таблицами (в основной части 20 таблиц и 13 в Приложениях) и 19 рисунками (в основной части 12 рисунков и 7 в Приложениях).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Развитие широкого спектра патологических состояний (свыше 200 нозологий) связывают с таким важным патогенетическим фактором, как интенсификация процессов свободнорадикального окисления (далее - СРО) и повышенная выработка активных форм кислорода (далее – АФК). [98].

Стрессовые факторы окружающей среды (например, ультрафиолетовое излучение, ионизирующее излучение, загрязняющие вещества, тяжелые металлы) и ксенобиотики (антибластические препараты) способствуют значительному увеличению выработки АФК, вызывая дисбаланс, который приводит к повреждению клеток и тканей, а следовательно, к окислительному стрессу [113, 125].

Так, например, астма и хроническая обструктивная болезнь легких (далее - ХОБЛ) являются воспалительными заболеваниями легких, которые характеризуются как системное, хроническое, локализованное воспаление, одной из причин развития которого является окислительный стресс [126]. Источники окислительного стресса возникают из-за повышенного уровня вдыхаемых окислителей, а также высокого количества активных форм кислорода, выделяемого из воспалительных клеток. Увеличение уровня АФК, либо напрямую, либо через образование продуктов перекисного окисления липидов может играть роль в усилении воспалительного ответа как при астме, так и при ХОБЛ [72, 106].

Раковые клетки, обладающие ускоренным метаболизмом, требуют высоких концентраций АФК для поддержания жизнедеятельности и скорости распространения. А это значит, что необходимо предотвращать окислительный стресс во избежание развития рака [101, 105, 124].

Одним из наиболее простых и доступных путей устранения дисбаланса между антиоксидантной системой и процессами свободнорадикального окисления является применение антиоксидантов [47]. Их добавление в рацион питания или использование в качестве лекарственных препаратов, может позволить

предотвратить и/или устранить развитие ряда заболеваний, причиной которых становятся процессы СРО [123].

1.1. Свободные радикалы и окислительный стресс

Свободные радикалы впервые были описаны Моисеем Гомбергом в 1900 году [49, 92]. Долгое время их присутствие и участие в биологических системах из-за высокой реакционной способности и, следовательно, короткого времени жизни не было замечено. Спустя 30 лет немецкий биохимик Леонор Михаэлис предположил, что все реакции окисления проходят при воздействии свободных радикалов [49, 117]. Хотя это утверждение, в целом, не было верным, оно стимулировало интерес к роли свободных радикалов в биологических процессах. В 1950-х годах свободные радикалы были обнаружены в биологических системах, и сразу же было выдвинуто предположение, что они участвуют в различных патологических процессах, включая и старение [73, 94, 96, 160].

Роль свободнорадикальных окислительных процессов в патологии впервые постулировал в своих трудах советский биофизик Борис Николаевич Тарусов в середине 20 века. Примерно в это же время американский биогеронтолог Денхам Харман выдвинул свободнорадикальную теорию старения, согласно которой снижение активности антиоксидантной системы с возрастом приводит к повышению интенсивности СРО, что в свою очередь способствует дегенеративным изменениям в органах и тканях и вызывает развитие возрастных патологий [49].

Биологическое окисление соединений представляет собой каскад реакций, инициируемых и поддерживаемых высокореактивными частицами – свободными перекисными и алкильными радикалами и активными формами кислорода [128]. Фундаментальный механизм работы большинства антиоксидантов заключается в способности обрывать эти цепные реакции. Данный эффект достигается за счёт взаимодействия молекул антиоксиданта со свободными радикалами, в результате которого образуются стабильные или малореакционные радикальные продукты [27, 37].

АФК образуются в каскаде большого числа реакций, при этом они могут оказывать позитивное действие, выступая медиаторами в клеточных сигнальных путях, что делает эти соединения необходимыми для нормальной жизнедеятельности организма. Однако основным их свойством является высокая степень агрессивности, что делает их потенциально опасными для клеток, несмотря на короткое время существования [1, 13].

В норме радикальные процессы, протекающие в организме человека, контролирует и ограничивает антиоксидантная система, представляющая широкий класс биологических антиоксидантов. Результатом дисбаланса между системами антиоксидантной защиты и процессами СРО является развитие окислительного стресса. Это состояние характеризуется интенсивным окислительным повреждением макромолекул, таких как белки, липиды, углеводы и нуклеиновые кислоты, что приводит к глубоким нарушениям в функционировании клеточных структур [1, 13, 38].

Такой дисбаланс между окислителями и антиоксидантами в пользу первых и формирует понятие «окислительный стресс» [9, 15].

1.2. Антиоксиданты

Антиоксиданты – это ловушки для свободных радикалов, так как, отдавая электрон, они приостанавливают или полностью прекращают цепную реакцию. Это вещества природного или синтетического происхождения, выступающие ингибиторами окислительных процессов, происходящих в организме человека на клеточном уровне [129]. Как правило, это соединения, обладающие одним непрочным присоединенным электроном, который легко передаётся свободному радикалу, нейтрализуя и стабилизируя его молекулу. При этом сами антиоксиданты переходят в окисленное, устойчивое состояние [1, 23, 159].

1.2.1. Классификация. Механизм действия

Существует множество различных классификаций антиоксидантов. Клиническая классификация выделяет антиоксидантные препараты прямого и косвенного действия [47].

Антиоксиданты прямого действия обладают выраженными антирадикальными свойствами, которые определяются в тестах *in vitro*. Лекарственные препараты, обладающие антиоксидантным эффектом, относятся преимущественно к этой группе. В самой группе присутствует разделение антиоксидантов на донаторы протона, полиены, катализаторы, «ловушки» радикалов и комплексообразователи [38, 69].

Антиоксиданты косвенного действия проявляют активность *in vivo* и неэффективны *in vitro*, стимулируют антиоксидантную систему и способны уменьшать интенсивность СРО. Для них характерны следующие механизмы: стимуляция активности или реактивация ферментов антиоксидантной системы; угнетение процессов, которые приводят к накоплению АФК; смещение процессов СРО в сторону образования менее реакционно-способных соединений [23].

В зависимости от механизма действия антиоксидантов выделяют 3 группы:

1. Антирадикальные средства – непосредственно взаимодействуют со свободными радикалами, нейтрализуя их. К ним относят: эндогенные соединения, такие как α -токоферол (витамин Е), β -каротин (провитамин А), убихинон и др.; синтетические препараты, такие как эмоксипин, пробукол (Фенбутол) и др.

2. Антиоксидантные ферменты и их активаторы. К ним относят препараты: супероксиддисмутаза (эрисод, орготеин), натрия селенит и др.

3. Блокаторы образования свободных радикалов: аллопуринол, антигипоксанты [13].

Классификация антиоксидантов по химической структуре (фенолы, тиолы, каротиноиды, гидроксаматы и т.д.) позволяет с определенной долей уверенности предсказывать возможность наличия антиоксидантных свойств и эффективность действия веществ с определенным химическим строением [36]. Такой подход

позволяет искать новые перспективные соединения среди более узких определенных групп веществ с одновременным учетом степени их липофильности.

Кроме того, ряд авторов делят антиоксиданты на высокомолекулярные (ферменты, белки), которые с трудом проникают через клеточные барьеры, и низкомолекулярные (аминокислоты; витамины А, С, Е, К; полиамины и др.) [38].

В соответствии с простейшей классификацией антиоксиданты подразделяют на природные и синтетические [13].

Существенную роль в снижении окислительного стресса играет явление синергизма, которое заключается во взаимном потенцировании антиоксидантного эффекта при комбинированном применении нескольких антиоксидантов или их совместном действии с другими биологически активными веществами (далее – БАВ).

Вещества-синергисты представляют особый интерес в связи с тем, что усиливают эффективность ингибиторов окисления. Их механизм действия заключается в способности выступать в роли доноров протонов по отношению к фенольным антиоксидантам, способствуя их восстановлению. К данной группе относятся органические кислоты (например, аскорбиновая, лимонная) и комплексоны (ЭДТА). Помимо прямого восстановительного эффекта, они могут создавать кислую среду, повышающую стабильность антиоксидантов, а также инактивировать ионы металлов, катализирующие процессы окисления. Совместное применение антиоксидантов с синергистами приводит к выраженному потенцированию эффекта, значительно превышающему активность индивидуальных соединений. [15].

Другим примером взаимного усиления эффективности нескольких антиоксидантов может выступать взаимодействие витамина Е (α -токоферола) и фосфолипидов (фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и кардиолипина) в рыбном жире. Это приводит к более значительному снижению оксидантной активности по сравнению с действием каждого из вышеназванных веществ по отдельности [56].

Еще одним примером может служить исследование оливкового масла, в котором исследовали антиокислительную способность витамина Е и полифенолов (включая олеозидные формы), входящих в химический состав исследуемого масла. Каждый из исследуемых полифенолов показал незначительный антиокислительный эффект по сравнению с комбинацией вышеупомянутых веществ [54].

Но при применении антиоксидантов нужно учитывать их дозозависимый эффект. Так α -токоферол и α -токоτριенол предотвращают образование гидропероксидов при более низкой концентрации (100 мг/кг), а при концентрации более 700 мг/кг обнаруживается прооксидантный эффект, т.е. происходит инверсия антиоксидантного воздействия антирадикальных веществ на организм, следствием которого может быть токсическое воздействие на организм [3].

Широкое применение антиокислители получили в пищевой промышленности, так как способствуют сохранению биологической и пищевой ценности продуктов питания и органолептических качеств. В частности, предотвращая перекисное окисление липидов, они способны продлевать сроки хранения молочной и мясной продукции, обеспечивая сохранение её потребительских свойств [2, 18].

На сегодняшний день доказано участие свободных радикалов в патогенезе множества заболеваний, в связи с чем антиоксиданты находят широкое применение в различных областях практической медицины [13]. Их используют для профилактики и в комплексной терапии глазных болезней, сердечно-сосудистых заболеваний, диабетических осложнений, атеросклероза, болезни Альцгеймера, язвенных поражений желудочно-кишечного тракта (далее – ЖКТ), опухолевых процессов и др. [39].

Изучение эффективности действия антиоксидантов в онкологической практике является весьма актуальной задачей, так как больные злокачественными новообразованиями испытывают двойную оксидантную нагрузку, обусловленную опухолевым процессом и противоопухолевым лечением [23, 101]. Исследования последних 20 лет продемонстрировали неоднородные подходы и неоднозначные

результаты. В части рандомизированных клинических исследований (далее - РКИ), в которых использовались антиоксиданты-нутриенты, а это чаще всего витамины А, Е, С, β -каротина, коэнзим Q10, селен, медь и марганец, оказались практически неэффективными. В других РКИ сообщалось об эффективности этих антиоксидантов, а третья группа указывала на небезопасность длительного применения некоторых антиоксидантов (β -каротина, витаминов Е и А). Имеются данные об увеличении процента развития сердечно-сосудистой недостаточности, рака легких у курильщиков, риска развития геморрагических инсультов, остеопорозов и увеличения процента смертности при их приеме. Полученные негативные результаты, вероятно, связаны с тем, что устранение свободных радикалов приводит к вмешательству в целый ряд важных физиологических процессов, таких как скорость клеточного обмена; защитные механизмы, позволяющие уничтожать старые, дефектные клетки, в том числе и раковые; процессы в развитии неспецифического иммунитета и т.д. [127, 177].

Полифенолы представляют собой соединения, оказывающими различное биологическое действие на организм [27, 46]. К широкому спектру их свойств относят антиоксидантный [109], противовоспалительный [40, 106], противоопухолевый [101], кардиопротекторный, противоопухолевый и антимикробный [55, 125, 133, 177]. Полифенолы приобретают интерес благодаря широкому применению при различных патологиях.

Таким образом, основными показаниями к применению антиоксидантов являются избыточно активированные процессы свободнорадикального окисления, сопровождающие различные патологии. Выбор конкретных препаратов и дозировок, точные показания и противопоказания к их применению пока недостаточно разработаны и требуют дальнейших экспериментальных и клинических исследований.

1.3. Ресвератрол

1.3.1. Источники. Физико-химические свойства

Ресвератрол (3,5,4'-тригидроксистильбен) – полифенол, принадлежащий к группе фитоалексинов – соединений, отвечающих за реакцию растений на влияние патогенов [28]. Он может синтезироваться в растениях при высушивании, воздействии тяжелых металлов, ультрафиолетового излучения или озона [173]. Подтверждено фунгицидное действие ресвератрола в ответ на грибковые поражения растений. Этот полифенол первоначально был извлечен из чемерицы белой (*Veratrum album* L.) в 1940 году, позднее он был обнаружен примерно в 70 различных растениях: в шелковице, арахисе, какао-бобах, коре сосны, а также в ягодах, содержащих растительные пигменты и антиоксиданты (черника, голубика, клюква, земляника и др.) [42, 50]. При этом основным источником ресвератрола является кожура темного винограда, в каждом грамме которого содержится 50–100 мкг ресвератрола [36, 48, 50].

В таблице 1.1 представлены номенклатура и физико-химические свойства ресвератрола.

Таблица 1.1 - Физико-химические свойства ресвератрола

Химическое название	Брутто-формула	Молекулярная масса
3,5,4'- тригидроксистильбен	$C_{14}H_{12}O_3$	228,25 г/моль

В природе существует две формы ресвератрола: *цис*-ресвератрол и *транс*-ресвератрол (формула представлена на рисунке 1.1). *Транс*-ресвератрол обладает большей биологической активностью, под воздействием солнечных лучей переходит в *цис*-форму [31, 137].

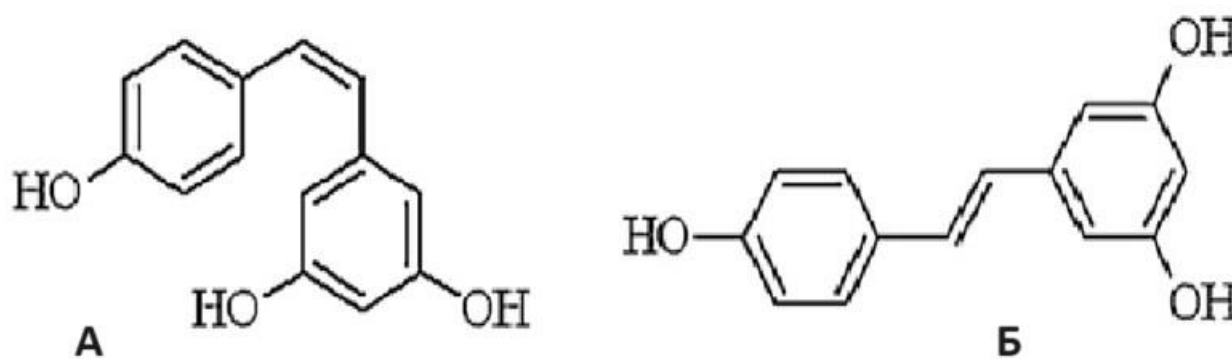


Рисунок 1.1 - Структурная формула ресвератрола:
А. цис-изомер, Б. транс-изомер

1.3.2. Биосинтез и метаболизм ресвератрола

Биосинтез ресвератрола происходит по фенилаланиновому пути, в котором ключевую роль в синтезе играют фенилаланин-аммиак-лиаза (PAL), кинурениназа (C4H), кумароил-КоА-лигаза (4CL) и стилбенсинтаза (STS). Конечный продукт синтезируется в транс-форме, которая может изомеризоваться в цис-форму или даже трансформироваться в транс- и цис-пицеид под действием 3-О-бета-гликозилтрансфераз ресвератрола (O-3-GT). р-кумароил-КоА является продуктом PAL, который содержится в большом количестве в растениях и используется в качестве предшественника для синтеза ресвератрола и халкона [173, 174].

Несмотря на доказанную пользу, биодоступность ресвератрола ограничена, и уровень молекулы в плазме крови очень низок. Основная причина низкой биодоступности ресвератрола заключается в его интенсивном метаболизме во второй фазе после перорального приема [41]. В энтероцитах и гепатоцитах ресвератрол метаболизируется до глюкуронидов и сульфатов с помощью УДФ-глюкуронидаз и сульфаттрансфераз. Ресвератрол-3-О-глюкуронид, ресвератрол-3-О-сульфат и ресвератрол-4-О-глюкуронид были обнаружены в качестве наиболее распространённых метаболитов у людей [173, 174]. Метаболиты ресвератрола представлены на рисунке 1.2.

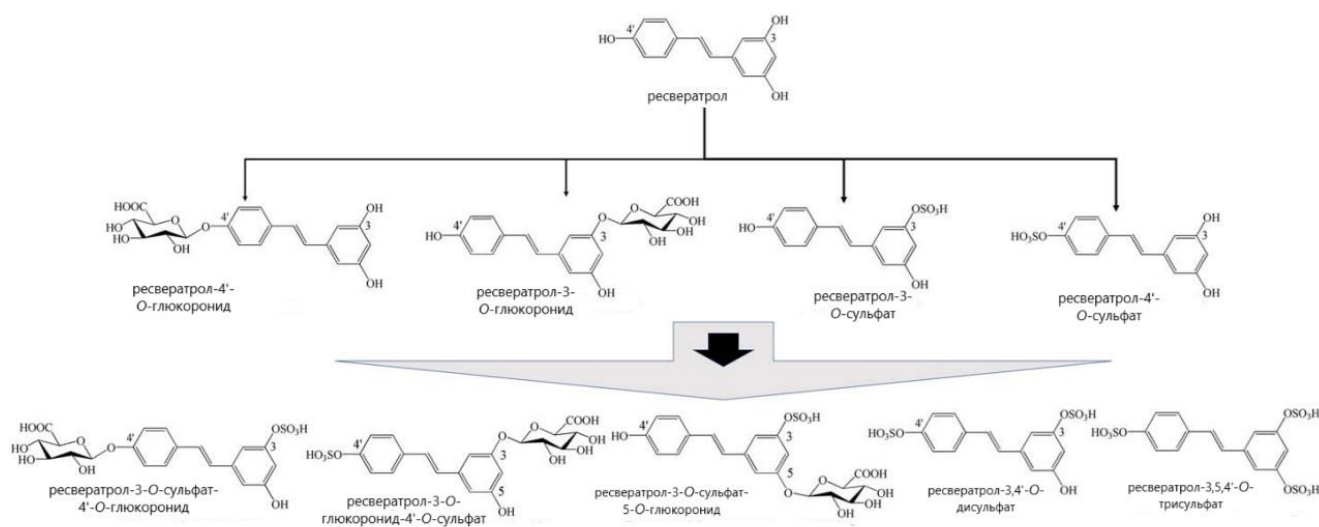


Рисунок 1.2 - Метаболиты ресвератрола [174]

В научной литературе есть данные по стабильности ресвератрола под действием стресс-факторов (кислотный/щелочной гидролиз, УФ-излучение, воздействием солей катионов железа и меди) на сырье, содержащее изучаемый полифенол, а также на растворы с его содержанием.

Исследование деградации ресвератрола показало существенные различия в скорости его разрушения в зависимости от матрицы. Результаты однозначно свидетельствуют о замедленной деградации ресвератрола в экстрактах по сравнению с водным раствором стандартного образца. Это наблюдение не противоречит существующим представлениям о химии ресвератрола. В растительной матрице ресвератрол не находится в изолированном виде, а взаимодействует с другими соединениями, присутствующими в растении. Это может проявляться в образовании различных комплексов с полисахаридами, белками, другими фенольными соединениями, что значительно снижает его реакционную способность и, следовательно, скорость деградации. Например, образование водородных связей с полисахаридами может экранировать реакционноспособные группы ресвератрола от воздействия окружающей среды, такой как кислород или свет, что способствует его стабилизации. Кроме того, присутствие антиоксидантов в экстрактах, таких как другие полифенолы или витамин С, также может играть защитную роль, предотвращая окислительную

деградацию ресвератрола. Проведенные стресс-тесты, включающие воздействие высоких температур, изменения pH и окислителей, подтвердили отсутствие значительного влияния примесей и продуктов деградации ресвератрола на точность количественного определения его содержания. Исследование долговременной стабильности ресвератрола показало его устойчивость при правильном хранении. В течение трёх лет свежее растительное сырьё сохраняло стабильное содержание ресвератрола при условии хранения в герметичной упаковке при низких температурах. Это подчеркивает важность контроля условий хранения для сохранения биологической активности растительного материала. После воздушно-теневого сушки сырья, содержание ресвератрола оставалось стабильным в течение двух лет, независимо от типа упаковки. В целом, полученные данные демонстрируют высокую стабильность ресвератрола в растительном сырье при соблюдении определенных условий хранения, что делает его перспективным компонентом различных пищевых продуктов и лекарственных препаратов [21, 137].

1.3.3. Фармакологическое действие

Исследования *in vivo* и *in vitro* показали, что ресвератрол обладает гипогликемическим [152] и гиполипидемическим [103, 108] эффектами, снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний [110, 151], обладает нейропротекторным действием [120, 159]. Результаты исследований противоопухолевой активности подтверждают эффективность ресвератрола в качестве эффективного биологически активного вещества для борьбы со злокачественной опухолью [150, 161]. Основное действие ресвератрола связывают с его сильным антиоксидантным действием, что играет важную роль для борьбы с заболеваниями, вызываемыми окислительным стрессом [36, 130]. Ресвератрол вызывает научный интерес как биологически активное соединение для профилактики и лечения сахарного диабета [43, 63, 166].

1.3.3.1. Противовоспалительный и иммуномодулирующий эффекты

Ресвератрол оказывает влияние на различные молекулярные мишени сигнальных провоспалительных каскадов, повышает активность антиоксидантных ферментов, эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), снижает экспрессию молекул адгезии [61, 146].

Противовоспалительные свойства ресвератрола были продемонстрированы в исследовании N. Elmali et al. на модели хронического артрита у кроликов. Внутрисуставное введение соединения предотвращало развитие воспалительных изменений и сохраняло функцию синовиальной ткани. Авторы связывают этот эффект со способностью ресвератрола ингибировать фактор транскрипции NF- κ B, что приводит к снижению экспрессии зависимых от него провоспалительных медиаторов: цитокинов, индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2). Ингибирование ЦОГ-2, а в некоторых условиях и ЦОГ-1, подавляет синтез провоспалительных эйкозаноидов [84].

Способность ресвератрола напрямую подавлять активность NF- κ B подтверждена в ряде исследований *in vitro*. В частности, работа M. Iyori показала, что ресвератрол дозозависимо угнетает активность NF- κ B в моноцитарно-макрофагальных клетках мыши и человека, что приводит к снижению экспрессии мембранных рецепторов и, как следствие, подавлению фагоцитоза *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [149].

Исследование, проведенное Чекалиной Н.И. с соавторами, с участием 30 пациентов с диагнозом ишемическая болезнь сердца в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом подтвердило противовоспалительный эффект ресвератрола [52]. После применения ресвератрола в дозе 100 мг в сутки в один прием *per os* после завтрака в течение 2 месяцев было отмечено достоверное снижение количества циркулирующих эндотелиальных микрочастиц с молекулярными маркерами воспалительной активации кластерных антигенов CD32+, CD40+ в периферической крови, что может быть результатом его влияния на внутриклеточные молекулярные каскады, связанные с NF- κ B.

Действие ресвератрола на клетки иммунной системы обладает выраженной дозозависимостью. В высоких концентрациях (порядка 10^{-4} М) он подавляет митоген-индуцированную пролиферацию лимфоцитов [85], в то время как в более низких (10^{-5} – 10^{-6} М) не влияет на пролиферацию, но эффективно ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов (ФНО- α , γ -интерферон, ИЛ-4) мононуклеарами и лимфоцитами периферической крови [85, 139]. Помимо этого, ресвератрол угнетает формирование цитотоксических клеток и ЛАК-активность [99]. Общим для всех этих эффектов является вероятный механизм, связанный с блокадой активации фактора транскрипции NF- κ B [99].

Иммуномодулирующие свойства ресвератрола предлагается использовать в коррекции аутоиммунных заболеваний [153], аллергии [78, 142] и реакций отторжения трансплантата [143, 164].

1.3.3.2. Заболевания сердечно-сосудистой системы

Уменьшение риска развития сердечно-сосудистых заболеваний - один из самых известных эффектов ресвератрола. Ресвератрол предупреждает развитие атеросклероза и артериальной гипертензии и ИБС, что обусловлено его антиоксидантной, гиполипидемической, антиагрегантной, кардиопротекторной, эндотелиопротекторной активностью [7, 145].

На молекулярном уровне кардиопротекторное действие ресвератрола обусловлено его способностью увеличивать синтез оксида азота (далее - NO) и ингибировать его деградацию *in vivo*. NO обеспечивает вазодилатацию, снижает адгезию лейкоцитов, уменьшает агрегацию тромбоцитов, ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток [16, 61, 146].

Как известно, ресвератрол является индуктором фермента NO-синтазы [55]. В эксперименте на модели ишемии-реперфузии сердца выявлено предупреждение реперфузионных нарушений ритма благодаря влиянию полифенола и, как результат, снижение смертности. Введение ресвератрола предупреждало количество и длительность возникновения желудочковой тахикардии и желудочковой фибрилляции, а также повышало содержание NO и снижало

содержание лактатдегидрогеназы в крови [65, 95]. Увеличение синтеза оксида азота под действием ресвератрола свидетельствует об эндотелиопротективных свойствах данного вещества. Подобные опыты проводились с моделями ишемии-реперфузии почек и головного мозга, где ресвератрол также предупреждал ишемические повреждения клеток [122].

Способность повышать экспрессию эндотелиальной (далее - eNOS) и индуцибельной NO-синтазы (далее - iNOS) также привлекла внимание учёных. По результатам проведенных исследований было отмечено, что фармакологическое preconditionирование ресвератролом наряду с дистантным ишемическим preconditionированием может рассматриваться, как доступный универсальный инструмент предупреждения ишемического повреждения мягких тканей в хирургии, а способность ресвератрола стимулировать неоангиогенез позволяет изучать возможность применения его как активатора репаративных процессов [14, 79].

В некоторых доклинических исследованиях показано, что ресвератрол может улучшать липидный профиль, в частности, за счет снижения общего уровня холестерина в плазме крови, а также за счет повышения уровня липопротеидов высокой плотности (далее - ЛПВП) и снижения содержания липопротеидов низкой плотности. Антиоксидантные свойства ресвератрола проявлялись также в снижении окисления ЛПВП - процесса, непосредственно участвующего в атерогенезе [99]. Антиатерогенные свойства ресвератрола также включают ингибирование миграции гладкомышечных клеток (далее - ГМК) в интиму сосудов.

Антигипертензивное действие ресвератрола отмечено в нескольких моделях артериальной гипертензии (далее - АГ) у животных после его применения в дозе 10–320 мг/кг/сут в течение 14 – 70 дней, в зависимости от модели исследований [179]. Отмечалось, что при применении ресвератрола в относительно низких (5–10 мг/кг/сут.) дозах значительно снижало артериальное давление в моделях, где АГ ассоциировалась с резистентностью к инсулину [111]. Это позволило предположить, что ресвератрол будет более эффективным у пациентов с

сахарным диабетом (далее - СД) или метаболическим синдромом. В нескольких исследованиях ресвератрол вводили до развития АГ. Так, V.W. Dolinsky с соавторами [151] отмечает, что в высоких дозах полифенол снижает высокое артериальное давление и предотвращает гипертрофию сердца в двух животных моделях АГ: крысах со спонтанной АГ и мышцах после инфузии ангиотензина II.

Что касается данных клинических исследований, то результаты метаанализа шести рандомизированных плацебо-контролируемых испытаний показали, что ресвератрол в высоких дозах (≥ 150 мг/сут) значительно снижал артериальное давление, тогда как при более низких не оказывал эффекта [146]. Следует отметить, что антигипертензивное действие ресвератрола, оцененное по повышению ацетилхолин-индуцированной вазорелаксации, было более выраженным при применении ресвератрола пациентам с АГ и дислипидемией [61, 82, 122].

Множественное защитное воздействие ресвератрола на сердечно-сосудистую систему способствует развитию новых терапевтических стратегий в лечении и профилактике атеросклероза и артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, острого коронарного синдрома, тромбоза и метаболического синдрома [134].

1.3.3.3. Онкологические заболевания

В 1997 году М. Jang с соавторами обнаружили, что применение ресвератрола ингибирует процесс развития рака кожи у мышей [66]. Данный факт послужил толчком к мировому изучению противоопухолевой активности этого полифенола.

Позже было обнаружено, что ресвератрол снижает риск возникновения злокачественной опухоли, способствуя уничтожению атипичных клеток и усиливая регенерацию здоровых [61, 66]. К примеру, ресвератрол ингибировал рост клеток оральной сквамозной карциномы, а также злокачественной меланомы [66, 167]. На культуре ткани молочной железы мышей установлено, что ресвератрол действует на три стадии карциногенеза: инициацию, промоцию,

прогрессию [150]. Проапоптотический эффект ресвератрола в отношении опухолевых клеток *in vitro* связывают с регуляцией внутриклеточных белков, в частности показано, что он может влиять на ключевые регуляторы TGF/SMAD, WNT, Notch и некоторые другие сигнальные пути [88].

При изучении рака толстой кишки у крыс ресвератрол индуцировал экспрессию проапоптотического белка Вах в поврежденных участках кишки [145, 161]. Он запускал апоптоз нескольких линий опухолевых клеток, усиливая их чувствительность к лиганду TRAIL (связанный с фактором некроза опухолей апоптоз-индуцирующий лиганд), при этом чувствительность нормальных фибробластов человека оставалась неизменной. Liu L. с соавторами продемонстрировал [148] возможность полифенола замедлять рост и пролиферацию клеток глиомы, а также вызывать их апоптоз через активацию экспрессии гена LRIG1. F.F. Radwan с соавторами в проведенных исследованиях обнаружил, что ресвератрол активирует антигены HLA класса II, опосредованно распознающих В-клетки злокачественной лимфомы клетками-киллерами, что потенциально может быть использовано в иммунотерапии В-клеточной лимфомы [114]. S.I. Khan с соавторами рассматривают возможность включения ресвератрола в схемы лечения рака молочной железы [105, 133]. Кроме того, антиканцерогенный эффект ресвератрола наблюдался у больных раком прямой кишки, простаты, легких, печени, желудка и поджелудочной железы [57, 71, 97, 141, 167, 170]. Проводятся клинические испытания по применению ресвератрола в профилактике рака предстательной железы, желудка, меланомы, щитовидной железы, колоректального рака [131].

На основании имеющихся на сегодняшний день результатов различных клинических и доклинических исследований можно сделать следующие выводы о применении ресвератрола в качестве биологически активного вещества для профилактики и лечения опухоли:

1. Ресвератрол может использоваться в качестве неоадьювантного химиотерапевтического вещества перед проведением операции для уменьшения

объема опухоли благодаря его способности ингибировать пролиферацию раковых клеток и индуцировать апоптоз;

2. Ресвератрол может использоваться в качестве адъюванта — химиотерапевтического препарата для подавления метастазирования рака после операции;

3. Ресвератрол может использоваться в качестве сенсibiliзирующего средства при лучевой или усилить эффект таких химиотерапевтических препаратов, как гемцитабин, темозоломид, доцетаксел, капсаицин;

4. Ресвератрол может использоваться для профилактики злокачественных заболеваний у людей с высоким риском развития рака;

5. Ресвератрол может использоваться в качестве радиозащитного средства для уменьшения побочных эффектов лучевой терапии (напр. ксеростомии и мукозита) [67, 138, 140, 145, 147, 175].

Рассмотренные выше исследования указывают на перспективность разработки лекарственной формы ресвератрола, так как он может найти широкое применение в профилактике и комплексной терапии различных патологических состояний.

1.4. Биодоступность

Биодоступность — скорость и степень, с которой активный ингредиент или активная часть абсорбируются из лекарственного препарата и достигают места их действия [64].

1.4.1. Проблемы низкой биодоступности и способы её повышения

Причины низкой биодоступности любого агента в организме связаны с плохой абсорбцией, высокой скоростью метаболизма и / или быстрым выведением из организма [41, 45, 70, 112]. Исследования фармакокинетики ресвератрола выявили низкое всасывание и быстрый метаболизм, ограничивающие его биодоступность [83, 137, 180].

К способам улучшения биодоступности относят:

- использование нанотехнологий (нанотранспортные системы доставки) [102, 119, 162];
- использование явления полиморфизма (для некоторых лекарственных веществ) [68];
- использование вспомогательных веществ (напр. солюбилизаторов) [163, 168];
- использование методов инкапсулирования, эмульсификации, включения в липосомы и т.д. [51, 77, 112, 116, 118] и др.

Согласно биофармацевтической классификационной системе (БКС) ресвератрол относится к II классу соединений, отличающихся низкой растворимостью и высокой степенью проницаемости, а также высокой липофильностью [8, 100, 144].

1.4.2. Солюбилизация

Эффективным способом повышения растворимости плохо растворимых биологически активных веществ, к которым относится ресвератрол, является использование солюбилизаторов для повышения растворимости [44, 168, 169].

Солюбилизация — коллоидный процесс самопроизвольного и обратимого проникновения солюбилизата — вещества с низкой молекулярной массой (как правило, неполярного, гидрофобного) внутрь мицелл солюбилизатора [22]

Солюбилизаторы - вещества, увеличивающие растворимость действующего вещества. В качестве таковых наиболее часто применяют мицеллообразующие поверхностно-активные вещества (ПАВ) и вещества, способные образовывать молекулярные комплексы включения [4, 107, 163].

В фармацевтической технологии применяют 2 типа солюбилизации:

- химическая модификация - введение в молекулу гидрофильных групп или химическое связывание с растворимым полимером;
- физико-химическая - за счет введения солюбилизаторов или включения в молекулу полимера, например циклодекстрина [26].

Солюбилизация позволяет получать новые, более эффективные лекарственные формы; снижать концентрацию действующих веществ при условии биоэквивалентности; понижать токсичность действия лекарственных веществ. За счёт применения различных типов солюбилизаторов можно получать как твёрдые дисперсии, так и жидкие самодиспергирующиеся композиции [26, 115, 171].

Самодиспергирующаяся композиция – это такая композиция, которая при добавлении в дисперсную среду образует устойчивую дисперсию в технологических процедурах с неинтенсивным диспергированием. Она состоит из фармацевтической субстанции, дисперсной фазы и поверхностно-активного вещества или комплекса-включения.

1.4.3. Поверхностно-активные вещества

Поверхностно-активные вещества – это химические соединения, которые, концентрируясь на поверхности раздела термодинамических фаз, вызывают снижение поверхностного натяжения [12, 58]. Для таких веществ характерно амфифильное строение, то есть их молекулы имеют в своём составе полярную часть (гидрофильный компонент) и неполярную часть (гидрофобный компонент) [156]. Классификация ПАВ приведена в таблице 1.2.

Таблица 1.2 - Классификация ПАВ

Ионогенные		
Катионные	Анионные	Амфотерные
Неионогенные		
Алкилполиэтоксилаты		Алкилполиглюкизиды

Кроме того, различают мицеллообразующие и не образующие мицелл ПАВ. Способностью к мицеллообразованию в водной фазе обладают ионогенные и неионогенные ПАВ, имеющие оптимальное значение гидрофильно-липофильного баланса (далее - ГЛБ) [80].

Под ГЛБ понимают соотношение полярных и неполярных атомных групп в молекулах ПАВ, его выражают числами условной шкалы, характеризующими область предпочтительного применения данных веществ [157]. Для мицеллообразования в водных растворах величина ГЛБ должна быть не менее 12-13, что характерно для ПАВ, содержащих от 8 до 18 атомов углерода в углеводородной цепи. В полярных растворителях образуются прямые мицеллы, состоящие из неполярного ядра, образованного гидрофобными радикалами, и поверхностного слоя из ориентированных к растворителю полярных групп [12, 116].

Склонность к солюбилизации гидрофобных веществ в родственных им по природе углеводородных ядрах мицелл – одно из основных и важнейших свойств мицеллярных растворов ПАВ. Солюбилизация начинается тогда, когда концентрация ПАВ достигает критической концентрации мицеллообразования, при повышении концентрации число мицелл увеличивается, и солюбилизация идёт более интенсивно. Она протекает самопроизвольно, сопровождается убылью свободной энергии системы, приводит к образованию термодинамически и агрегативно устойчивых, прозрачных, не обнаруживающих расслоения во времени равновесных растворов.

Солюбилизующая способность ПАВ растёт в пределах конкретного гомологического ряда по мере увеличения числа углеводородных радикалов и их удлинения [5]. На рисунке 1.3 схематически представлен механизм солюбилизации неполярного гидрофобного вещества.

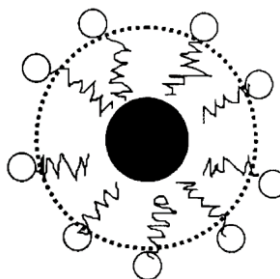


Рисунок 1.3 - Солюбилизация сферическими мицеллами гидрофобных веществ

ПАВ в качестве солюбилизирующих агентов занимают важное место в технологии лекарственных форм. Введение ПАВ позволяет получать препараты стероидов для парентерального и наружного использования, широко известна солюбилизация витаминов А и Е. Установлено, что растворимость бензойной, салициловой, ацетилсалициловой кислот, рибофлавина, кодеина, стрептоцида и сульфаниламидов возрастает в 2-5%-ных растворах различных полисорбатов в 1,2 - 2,3 раза. С помощью солюбилизации получены водные растворы синтомицина (0,6 - 0,9%), дибазола (1,9%), фурацилина (0,09 - 1,0%).

1.4.3.1. Полисорбаты

Полисорбаты — неионогенные ПАВ на основе оксиэтилированных сорбитанов. Они обладают хорошей растворимостью в воде и ряде органических растворителей, стабильны при стерилизации и малотоксичны, что обуславливает их широкое применение в фармацевтической технологии в качестве эмульгаторов и солюбилизаторов [6, 132, 158]. Структурная формула полисорбата представлена на рисунке 1.4.

Классификация полисорбатов основана на виде жирной кислоты (лауриновая, пальмитиновая, стеариновая, олеиновая), этерифицирующей полиоксиэтиленсорбитановую основу, что отражено в цифровом индексе (20, 40, 60, 80 соответственно). Источником кислот служат различные растительные масла (кокосовое, пальмовое, оливковое).

Ключевое технологическое свойство — гидрофильно-липофильный баланс (ГЛБ) — зависит от номера: его значение снижается с ростом индекса, что свидетельствует о повышении липофильности производного [5, 6, 60].

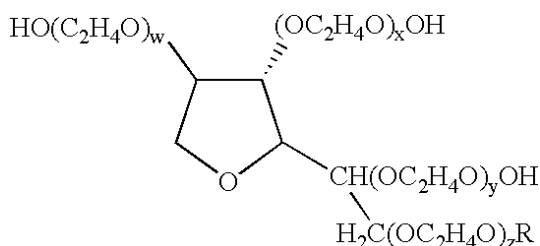


Рисунок 1.4 – Структурная формула полисорбата

Полисорбат 20 – неионогенное ПАВ. Малотоксичная, вязкая, маслянистая жидкость, производное лауриловой кислоты. Это растворитель и эмульгатор, улучшитель вязкости [6, 20].

Полисорбат 40 – неионогенное ПАВ. Используется в качестве эмульгатора, стабилизатора эфирных масел в воде. Кроме того, это моющее средство, детергент. Используется в различных очищающих и увлажняющих продуктах.

Наибольшую популярность в фармацевтической технологии получил полисорбат-80.

Полисорбат 80 – неионогенное ПАВ, эмульгатор I рода, солюбилизатор, характеризуется величиной гидрофильно-липофильного баланса ГЛБ = 14,6. По внешнему виду это вязкая жидкость, хорошо растворимая в растительных маслах, некоторых спиртах, растворимая в воде. pH водных растворов с концентрацией 5 – 10% данного эмульгатора близок к нейтральному и составляет величину 5-7. В химическом отношении молекула полисорбата 80 представляет собой полиоксиэтилен-(20)-сорбитанмоноолеат с общей формулой $C_{58}H_{114}O_{26}$. Это смесь сложных эфиров олеиновой кислоты с сорбитом и с его моноангидридами и диангидридами, конденсированная с этиленоксидом в соотношении 20:1 (примерно 20 моль этиленоксида на 1 моль сорбита и его ангидридов).[6, 156].

Полисорбаты – безопасные эмульгаторы и солюбилизаторы, которые активно используются в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности, не имеющие канцерогенных и мутагенных свойств, а процент аллергических реакций, вызываемых этими веществами ничтожно мал – 0,5-1,47% случаев [6, 86].

Получение жидких самодиспергирующихся композиций ресвератрола с применением полисорбатов в качестве солюбилизаторов может стать основой для разработки такой лекарственной формы этого антиоксиданта в капсулах.

На сегодняшний день полисорбаты активно используются в пищевой промышленности для создания мицелл. Благодаря инкапсулированию

биологически активных веществ с низкой биодоступностью в данные виды мицелл, можно добиться высокой концентрации этих веществ в крови.

1.4.3.2. Полосамеры

Полосамеры – это синтетические блок-сополимеры этиленоксида (a) и пропиленоксида (b), представленные общей формулой на рисунке 1.5 [6, 87]:

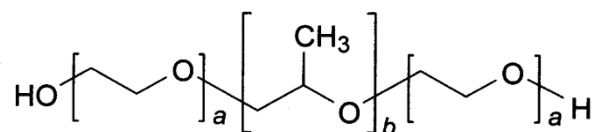


Рисунок 1.5 – Структурная формула полосамера

В зависимости от количества единиц этиленоксида и пропиленоксида полосамеры делятся на типы, которые представлены в таблице 1.3 [6, 87].

Таблица 1.3 - Типы полосамеров в зависимости от количества единиц этиленоксида и пропиленоксида

Тип полосамера	Единиц этиленоксида (a)	Единиц пропиленоксида (b)	Содержание оксиэтилена (%)	Средняя относительная мол. масса
124	10 – 15	18 – 23	44,8 – 48,6	2090 – 2360
188	75 – 85	25 – 30	79,9 – 83,7	7680 – 9510
237	60 – 68	35 – 40	70,5 – 74,3	6840 – 8830
338	137 – 146	42 – 47	81,4 – 84,9	12700 – 17400
407	95 – 105	54 – 60	71,5 – 74,9	9840 – 14600

В последние десятилетия полосамеры нашли широкое применение в технологии лекарственных и косметических средств. Особый интерес представляет их использование в составе белковых препаратов для повышения стабильности.

Данные сополимеры ценятся благодаря уникальному свойству термореактивного гелеобразования *in situ*. Будучи неионогенными ПАВ,

полоксамеры способны формировать водные системы, которые при повышении температуры претерпевают фазовый переход из состояния раствора с низкой вязкостью в гель с высокой вязкостью (явление «термического гелеобразования») [17].

Подобно другим поверхностно-активным веществам, полуксамер-407 способен инкорпорироваться в липидные бислои биомембран, повышая их проницаемость. Это свойство, наряду со способностью к мицеллообразованию, делает его эффективным наноносителем для доставки лекарственных веществ

Полуксамер-407, представитель семейства неионных поверхностно-активных веществ (ПАВ), является широко используемым вспомогательным веществом, включенным в Список основных вспомогательных веществ, используемых при производстве лекарственных препаратов [25]. Его уникальное свойство заключается в способности временно ингибировать доставку лекарственного соединения в клетки, что приводит к пролонгированию действия ЛС. Этот механизм связан с образованием мицелл полуксамера, которые обволакивают молекулы лекарственного вещества, препятствуя их быстрому всасыванию. Вместе с тем, последующий фагоцитоз этих мицелл обеспечивает постепенное высвобождение лекарственного вещества, обеспечивая его длительное терапевтическое действие. Это особенно актуально для препаратов с коротким периодом полувыведения, требующих частых приемов. Полуксамеры также улучшают растворимость и стабильность лекарственных соединений, особенно плохо растворимых в воде. Их использование открывает широкие возможности для создания твердых лекарственных форм, таких как твердые капсулы, обеспечивая при этом стабильность и контролируемое высвобождение активного вещества. Например, композиции ресвератрола на основе полуксамеров представляют собой перспективное направление для разработки инновационных лекарственных препаратов с улучшенными фармакокинетическими свойствами [53].

1.4.3.3. Циклодекстрины

Ещё один класс солюбилизаторов, применяемый в фармацевтической технологии и использующийся для создания систем доставки в виде твёрдых дисперсий, представляют циклодекстрины.

Циклодекстрины (далее - ЦД, CD) – это природные циклические олигосахариды, представляющие собой еще один класс эффективных солюбилизаторов, используемых в фармацевтической технологии. Эти молекулы имеют форму усеченного конуса с полостью внутри, которая способна образовывать инклюзионные комплексы с различными лекарственными соединениями. Наиболее распространены α -, β - и γ -циклодекстрины, состоящие из 6, 7 и 8 глюкопиранозных единиц соответственно (рисунок 1.6) [76]. Различия в размере полости определяют селективность комплексообразования с различными молекулами лекарственных веществ [86, 165].

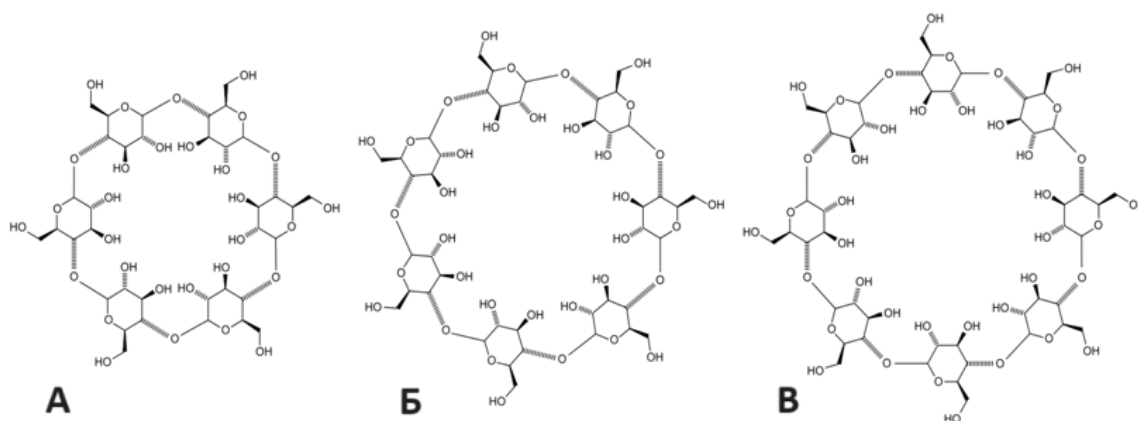


Рисунок 1.6 – Структурная формула циклодекстрина:
А. α -циклодекстрин, Б. β -циклодекстрин В. γ -циклодекстрин

Хотя точная природа взаимодействий в таких комплексах (ван-дер-ваальсовы силы, гидрофобные эффекты) остается предметом научной дискуссии [59, 90, 104], практическая ценность ЦД заключается в их способности выступать в роли «нанокапсул», радикально меняя свойства инкапсулированных молекул, повышая растворимость, стабильность и биодоступность фармакологически активных веществ [91]. Это комплексообразование может приводить к настолько значительным изменениям физико-химических и терапевтических характеристик

исходной субстанции, что полученные лекарственные формы приобретают роль инновационных препаратов, выходя за рамки дженериковых аналогов [13].

Фармакокинетический профиль ЦД характеризуется относительно быстрой элиминацией из организма преимущественно за счет почечной фильтрации. Период полувыведения ($T_{1/2}$) после парентерального введения составляет около 1 часа, что свидетельствует о непродолжительном системном воздействии. Благодаря своей уникальной способности формировать комплексы включения, ЦД нашли широкое применение в качестве функциональных носителей для создания современных лекарственных форм с контролируемым (замедленным, модифицированным и таргетным) высвобождением.

Сферы применения ЦД охватывают разработку практически всех типов лекарственных форм: от назальных и глазных капель до трансдермальных, пероральных, парентеральных и других систем. Ключевым преимуществом является их способность усиливать проницаемость биологических барьеров (слизистых оболочек, кожи), что приводит к значительному улучшению абсорбции и биодоступности для широкого спектра соединений, включая глюкокортикоиды, НПВС, антибиотики, гормоны и пептиды. Особую ценность ЦД представляют для высокотоксичных препаратов, таких как цитостатики, где их использование позволяет не только повысить растворимость, но и существенно снизить токсичность и улучшить переносимость терапии [32, 135].

Таким образом, спектр применяемых в фармации солюбилизирующих агентов достаточно широк и не ограничивается рассмотренными выше классами веществ. Это обуславливает необходимость проведения исследований, направленных на оценку влияния различных видов солюбилизаторов на свойства самодиспергирующихся композиций с ресвератролом. Результаты таких исследований способны сыграть ключевую роль в выборе оптимальной лекарственной формы и, как следствие, определить направление дальнейших исследований, направленных на разработку лекарственного препарата на основе данной фармацевтической субстанции.

1.5. Выводы к главе 1

На сегодняшний день большое количество патологических состояний и таких заболеваний как ХОБЛ или злокачественная опухоль могут быть вызваны повышенным образованием активных форм кислорода. Для устранения избытка АФК необходимо вводить препараты, содержащие антиоксиданты.

Ресвератрол является сильным антиокислителем и перспективным с точки зрения разработки веществом. Проведённый анализ литературных данных показывает, что при разработке пероральных твёрдых лекарственных форм с ресвератролом, возникают трудности с обеспечением высокой кинетики высвобождения. Это связано с низкой растворимостью ресвератрола в воде (БКС – II группа). В связи с чем на отечественном и зарубежном фармацевтическом рынке отсутствуют лекарственные препараты с ресвератролом.

Таким образом, разработка лекарственных препаратов с ресвератролом, обладающим высокой растворимостью, является одной из перспективных задач современной фармацевтической технологии.

Методов повышения растворимости труднорастворимых биологически активных веществ и активных фармацевтических субстанций много. И одним из способов решения задачи низкой растворимости может стать применение метода солюбилизации и использование таких групп солюбилизаторов, как полисорбаты, циклодекстрины и полуксамеры. Разработка композиции, содержащей ресвератрол и солюбилизатор, даст возможность повысить растворимость исследуемого полифенола, и, как следствие, его биодоступность.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Действующее вещество. Ресвератрол

Проводили исследования сухой субстанции ресвератрола с содержанием изомера *транс*-ресвератрола resVida не менее 99,0 % (далее - I). Субстанция была получена от DSM (Швейцария).

Субстанция ресвератрола - это белый кристаллический порошок с желтоватым оттенком. Согласно спецификации производителя, полифенол плохо растворим в воде при комнатной температуре и при нагревании, нерастворим в кислотах, 0,1 Н NaOH.

Ввиду отсутствия справочных данных о растворимости ресвератрола в органических растворителях была проведена её оценка в эксперименте.

Для оценки растворимости ресвератрола были приготовлены растворы с его массовой долей 5, 10, 15, и 20% в следующих растворителях: этанол, метанол, ацетонитрил, ацетон.

На аналитических весах в круглодонные герметично закрывающиеся стеклянные пробирки объемом 5 мл отвешивали по 100, 200, 300 и 400 мг ресвератрола и добавляли растворитель до 2 г. Пробирки помещали на шейкер-инкубатор IKA KS 3000 icontrol (Германия) и проводили растворение в течение 10 минут при $t=25,6^{\circ}\text{C}$ и встряхивании с частотой 175 об/мин. По окончании встряхивания проводили наблюдение: ресвератрол считали растворившимся, если в проходящем свете не обнаруживались частицы вещества. Для каждого растворителя определяли минимальную концентрацию, при которой ресвератрол оказывался нерастворим и проводили дальнейшее исследование: колбу с образцом помещали на шейкер и проводили растворение при $t=45,5^{\circ}\text{C}$ (для хлористого метилена при $t=31^{\circ}\text{C}$ – на 10°C ниже его $t_{\text{кип}}$) и частоте встряхивания 175 об/мин в течение 10 мин. Полученные результаты представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Растворимости ресвератрола в органических растворителях

Концентрация ресвератрола w/w, %	Растворитель							
	Этанол		Метанол		Ацетонитрил		Ацетон	
	25,5°C	45,5°C	25,5°C	45,5°C	25,5°C	45,5°C	25,5°C	45,5°C
5	+	+	+	+	–	–	+	+
10	+	+	+	+	–	–	+	+
15	–	–	–	–	–	–	+	+
20	–	–	–	–	–	–	–	–

Отмечена наилучшая растворимость субстанции в ацетоне, которая при пересчете в г/мл соответствует фармакопейному термину «легко растворим»; этанол и метанол позволяют растворить оптимальную рабочую концентрацию ресвератрола, равную 10% по массе, что соответствует фармакопейному термину «растворим»; нагревание не оказывало значительного влияния на процесс растворения.

Подлинность ресвератрола можно установить двумя способами:

1. При помощи спектрофотометрии. Максимум спектра поглощения образца субстанции приходится на область 290 - 310 нм. Максимумы поглощения при рН = 1.2 и рН = 6.8 равны $303,8 \pm 2$ нм и $301,2 \pm 2$ нм, соответственно.

2. При помощи высокоэффективно жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием. Время удержания (t_R) ресвератрола составляет 2 мин 20 сек (± 5 сек).

2.2. Вспомогательные вещества

Для получения самодиспергирующихся композиций в работе использовали следующие группы солюбилизаторов.

Полоксамеры Kolliphor® P188 (P188) и Kolliphor® 407 (P407) фирмы BASF (Германия). Представляют собой белые мелкодисперсные порошки, обладающие гидрофильными свойствами.

Полисорбаты Tween 20 (T20), Tween 40 (T40), Tween 80 (T80) фирмы Sigma Aldrich (США). Представляют собой жёлтые прозрачные вязкие субстанции со слабым запахом. Обладают отличной растворимостью в воде.

Циклодекстрины (ЦД): альфа-ЦД (α -ЦД), бета-ЦД (β -ЦД), гамма-ЦД (γ -ЦД), гидроксипропил-альфа-ЦД (HP- α -ЦД) от Ashland Industries Europe GmbH (Швейцария); модифицированные ЦД: гидроксипропил-гамма-ЦД (гидроксипропил- γ -ЦД), метил-бета-ЦД (метил- β -ЦД), сукцинил-альфа-ЦД (сукцинил- α -ЦД) от «Кемикал Лайн» (РФ). Представляют собой белые мелкодисперсные легко летучие порошки, со слабым запахом, обладающие гидрофильными свойствами.

При проведении исследований были использованы следующие растворители и реактивы:

- Sigma Aldrich: лимонная кислота б/в, аскорбиновая кислота, метанол; калия хлорид, натрия гидроксид, фосфат калия одноосновный;
- ООО «Кемикал Лайн»: кислота хлористоводородная концентрированная, спирт этиловый 95%;
- PanReas AppliChe: ацетонитрил, уксусная кислота

А также вода, полученная в условиях лаборатории.

В качестве вспомогательных компонентов для таблетирования были использованы следующие компоненты Лудипресс®, (Ludipress®), Стеариновая кислота, Acilube®, Лактоза моногидрат + кукурузный крахмал Starlac®, Натрия крахмала гликолят, Glycolys®, Крахмал, Маннитол, Pearliton® 100 SD-Manitol, краткая характеристика которых приведена в таблице 2.2.

В работе использовали 50 мМ солянокислый буфер с pH 1,2 и 50 мМ фосфатный буфер с pH 6,8, моделирующие среду отделов ЖКТ, в котором происходит наилучшее всасывание ресвератрола.

Таблица 2.2 – Вспомогательные вещества для таблетирования

Наименование	Характеристика	Нормативная документация	Квалификация, производитель
Лудипресс®, (Ludipress®)	Смесь лактозы моногидрата, Kollidon® 30 и Kollidon® CL. Является хорошим связующим агентом. Белые сыпучие гранулы без запаха. Хорошо растворим в воде.	Спецификация производителя	х.ч., BASF, Германия,
Стеариновая кислота	Является антифрикционным скользящим агентом. Твердое порошкообразное или хлопьевидное вещество белого цвета со слабым запахом. Нерастворима в воде	Спецификация производителя	Х.ч., Nitika Pharmaceutical Specialities, Индия
Лактоза моногидрат + кукурузный крахмал Starlac®	Состоит из 85% моногидрата альфа-лактозы и 15% кукурузного крахмала Смесь наполнителя и дезинтегранта. Белый легкосыпучий порошок.	Спецификация производителя	Х.ч., MEGGLE Group Wasserburg BG Excipients & Technology, Германия
Натрия крахмала гликолят Glycolys®	Является дезинтегрантом. Белый или почти белый очень гигроскопичный порошок. Практически не растворим в воде, дает полупрозрачную суспензию в воде.	Спецификация производителя	Roquette, США
Крахмал	Наполнитель, разрыхлитель.	Спецификация производителя	Roquette, США
Маннитол Pearlitol® 100 SD-Manitol	100% Маннит. Наполнитель для таблеток, изготавливаемых методом прямого прессования.	Спецификация производителя	Roquette, США

2.3. Определение физико-технологических параметров разработанных композиций и показателей качества таблеток

Технологические характеристики субстанции, вспомогательных веществ, таблеточных масс определявшиеся по стандартным методикам, описанным в ГФ XV РФ [6], а также используемое в ходе исследований оборудование, представлены в таблицах 2.3 и 2.4.

В качестве вспомогательного оборудования были использованы встряхиватель ИКА KS control 3000 (Германия) и центрифуга Biosan LMC 3000 (Латвия).

Статистическую обработку экспериментальных данных делали с использованием программы Microsoft Office Excel. Приводимые экспериментальные данные представляют собой среднее по результатам трех независимых измерений или приводятся в виде среднего $\pm$ ошибка среднего.

Тест «растворение» ресвератрола проводили на приборе типа «лопастная мешалка». В качестве среды растворения использовали 50 мМ солянокислый буфер с pH 1,2. Объем среды растворения - 500 мл, температура — $37 \pm 0,5$ °C. Скорость вращения лопастной мешалки устанавливали на 50 об/мин.

Количественное определение

Количественное содержание ресвератрола в ходе эксперимента устанавливали по методике определения ресвератрола согласно монографии «Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи» В.А. Тутельяна методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием. Хроматографические исследования проводили на приборе фирмы Agilent Technologies 1200 Infinity с автоматическим пробоотборником Agilent 1200, вакуумным микродегазатором, градиентным насосом и термостатом той же серии.

При подготовке проб точные навески композиций массой 25 мг растворяли в 5 мл воды в пенициллиновых флаконах на 10 мл, после чего переносили 100 мкл раствора в мерную колбу на 5 мл и доводили водой до метки. Таким образом, анализируемый раствор предполагал содержание 10 мкг/мл ресвератрола.

Условия для проведения хроматографического анализа:

- колонка Agilent Poroshell 120 EC-C18 2.7 μm 4.6x50mm,
- подвижная фаза: водный раствор муравьиной кислоты 0,1% – ацетонитрил (70:30), температура колонки 30°C,
- скорость подачи подвижной фазы 0,7 мл/мин;
- объем вводимой пробы 2 мкл;
- детектирование при $\lambda = 307$ нм.

Калибровочная кривая в диапазоне концентраций 0,004-0,4 мг/мл имела линейный характер (рисунок хроматограммы представлен в приложении А, рисунки А.1 и А.2). Для регистрации и обработки спектральных данных и хроматограмм использовали программное обеспечение «Agilent ChemStation».

Данная методика определения ресвератрола была валидирована по показателям: специфичность, линейность, прецизионность (сходимость), правильность и определен диапазон аналитического метода (отчет о валидации методики представлен в приложении Е).

Таблица 2.3 – Используемые НД при оценке физико-технологических характеристик исходного сырья

Методика	Нормативный документ	Оборудование
Фракционный (гранулометрический состав)	ОФС.1.4.2.0032 Ситовой анализ	ситовой анализатор А 12 (Вибротехник, РФ)
Сыпучесть, г/с*	ОФС.1.4.2.0016 Сыпучесть порошков	тестер сыпучести порошков и гранулятов ERWEKA GTB (ERWEKA, Германия)
Угол естественного откоса, градус		
Насыпная плотность без уплотнения, г/мл	ОФС.1.4.2.0024 Насыпная плотность и плотность после уплотнения	тестер ERWEKA SVM 121 (ERWEKA, Германия)
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл*		
коэффициенты прессуемости и Хауснера	ОФС.1.4.2.0016 Сыпучесть порошков, ОФС.1.4.2.0024 Насыпная плотность и плотность после уплотнения	-

Таблица 2.4 – Используемые НД при оценке показателей качества разработанных таблеток

Методика	ОФС	Оборудование
Описание	ОФС.1.4.1.0015 Таблетки	визуально
Истираемость таблеток, %	ОФС.1.1.1.0015 Истираемость таблеток	тестер TAR 220 (ERWEKA, Германия)
Распадаемость, мин **	ОФС.1.4.2.0013 Распадаемость твердых лекарственных форм	тестер распадаемости ZT 320m (ERWEKA, Германия)
Прочность, Н ***	ОФС.1.1.1.0017 Прочность таблеток на раздавливание	тестер ТВН 125 (ERWEKA, Германия)

Продолжение таблицы 2.4

Методика.	ОФС	Оборудование
Растворение	ОФС.1.4.2.0014 Растворение для твёрдых дозированных лекарственных форм	тестер растворения ДТ 820 ERWEKA (Германия) с автоматическим отбором проб спектрофотометра UV-1800 Shimadzu (Япония)
Однородность дозирования, %*	ОФС.1.4.2.0008 Однородность дозирования	Agilent Technologies 1200 Infinity с автоматическим пробоотборником Agilent 1200
Количественное определение	Хроматографический метод: УФ - ВЭЖХ	

2.4. Определение стабильности разработанных композиций

Исследование стабильности композиций ресвератрола при хранении и определение влияния на неё различных солюбилизаторов и стабилизаторов проводили путём отслеживания изменения внешнего вида композиций, а также изменения концентрации полифенола в экспериментальных образцах путем ускоренных исследований. Эксперимент проводился в соответствии с требованиями актуальной на тот период времени ГФ РФ XIII изд. ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств». Температурный режим определялся согласно формуле:

$$C = K * C_0$$

где C - срок годности, C_0 – экспериментальный срок годности, K - коэффициент соответствия, рассчитываемый по следующей формуле:

$$K = A^{\frac{t_3 - t_{xp}}{10}}$$

Где A – температурный коэффициент скорости химической реакции (принят равным 2,5), t_{xp} – температура хранения, t_3 - повышенная температура экспериментального хранения

В круглодонные герметично закрывающиеся пробирки объемом 5 мл отвешивали по 500 мг композиций и помещали в термостат Binder (Германия) на хранение при $t=51 (\pm 2) ^\circ\text{C}$ (влажность не регламентируется) на 24 дня. Оценку внешнего вида и отбор проб на анализ производили в день приготовления композиций и далее на 6, 12, 18 и 24 день экспериментального хранения.

Оценка стабильности композиций ресвератрола в водных средах проводилась путём отслеживания динамики изменения концентрации ресвератрола при растворении композиций в буферных растворах с рН различных отделов ЖКТ. Количественное определение ресвератрола в ходе эксперимента осуществляли с помощью ВЭЖХ аналогично методике, описанной выше. При подготовке проб готовились разведения композиций ресвератрола в солянокислом буфере (рН=1,2) и фосфатном буфере (рН=6,8) с концентрацией

ресвератрола 10 мкг/мл. В вials помещали 2 мл свежеприготовленного раствора и проводили количественное определение ресвератрола, далее отбор проб осуществлялся через 1, 6, 24 и 48 часов после приготовления [24].

2.5. Определение стабильности, сроков годности разработанных таблеток с ресвератролом

Определение стабильности и сроков годности таблетированной формы ресвератрола выполняли согласно нормативным требованиям, изложенным в ОФС.1.1.0009, ОФС 2.3.17.0 и Требованиям ЕЭК №69. С целью прогнозирования стабильности был применен метод ускоренных исследований, для которого образцы выдерживали в течение 6 месяцев при $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ и влажности $(75 \pm 5)\%$. Контрольные точки для анализа ключевых параметров качества были установлены на 0, 3 и 6 месяц.

Параллельно проводили исследования в режиме реального времени (долгосрочные). Таблетки, упакованные во флаконы из полиэтилена высокой плотности, хранили при температуре $25 (\pm 2)^\circ\text{C}$ и влажности $60 (\pm 5)\%$ для установления фактических сроков годности.

При проведении долгосрочных исследований при температуре $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ количество ресвератрола по истечении проведения эксперимента стало ниже 95% (93,78%), что не соответствует требованиям к показателям качества, указанным в ОФС «Таблетки».

Решение о проведении исследований в условиях пониженной температуры $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ было принято с целью моделирования возможных режимов хранения, в частности, в холодильнике. Результаты показали, что за весь период наблюдений снижение содержания ресвератрола в образцах не превысило 2% от исходного уровня, а все контролируемые показатели качества оставались в установленных пределах. Мониторинг качества осуществляли со следующей периодичностью: ежеквартально в течение первого года, каждые полгода на втором и третьем году

хранения. Дополнительный контроль был проведен спустя 39 месяцев со дня изготовления, что на три месяца превышает предполагаемый срок годности [29].

2.6. Выводы к главе 2

Биологически активное вещество ресвератрол представляет широкий научный интерес, но в связи с тем, что изучаемый полифенол не зарегистрирован как фармацевтическая субстанция, то сведений о его физико-технологических характеристиках не зафиксировано.

Таким образом, была проведена оценка спектральных характеристик ресвератрола в чистом виде и в составе композиций, представлены формулы для расчета молярных коэффициентов солюбилизации ресвератрола.

Разработанные композиции представляют собой смесь ресвератрола с солюбилизаторами, а также стабилизирующими добавками. Сухие смеси были растворены в общем растворителе – метаноле, который в дальнейшем отгонялся на ротаторном испарителе.

Далее для оценки физико-технологических свойств разработанных композиций был отобран ряд исследований согласно требованиям ГФ РФ XV изд. по показателям: фракционный состав, сыпучесть, угол естественного откоса, насыпная плотность (до и после уплотнения), рассчитаны показатели Хауснера и Карра. Эти же физико-технологические характеристики оценивались при определении показателей качества разработанных таблетлируемых масс.

В дальнейшем для оценки качества полученных таблеток были проведены испытания показателей качества согласно ГФ РФ XV изд. ОФС «Таблетки» по показателям: описание (внешний вид), прочность на истирание, прочность на раздавливание, распадаемость, растворение, однородность дозирования.

Разработана и валидирована методика количественного определения ресвератрола в разработанных таблетках методом ВЭЖХ с УФ-детектированием.

ГЛАВА 3. ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ КОМПОЗИЦИЙ РЕСВЕРАТРОЛА С СОЛЮБИЛИЗАТОРАМИ

3.1. Приготовление стандартных растворов для исследования и расчеты

Приготовление рабочих стандартных растворов.

1) Для приготовления стандартного раствора ресвератрола с концентрацией 0,0375 мМоль/л точную навеску 8,5 мг ресвератрола переносят в мерную колбу вместимостью 1 л заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

2) Для приготовления стандартного раствора полоксамера 188 с концентрацией 10 мМоль/л точную навеску 600,0 мг полоксамера переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

3) Для приготовления стандартного раствора полоксамера 407 с концентрацией 10 мМоль/л точную навеску 1200,0 мг полоксамера переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

4) Для приготовления стандартного раствора твина-20 с концентрацией 10 мМоль/л в мерную колбу вместимостью 10 мл, предварительно оттарированной, при помощи мерной пипетки добавляют 122,7 мг полисорбата, заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

5) Для приготовления стандартного раствора твина-40 с концентрацией 10 мМоль/л в мерную колбу вместимостью 10 мл, предварительно оттарированной, при помощи мерной пипетки добавляют 127,7 мг полисорбата, заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

6) Для приготовления стандартного раствора твина-80 с концентрацией 10 мМоль/л в мерную колбу вместимостью 10 мл, предварительно оттарированной, при помощи мерной пипетки доводят 131,0 мг полисорбата, заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

7) Для приготовления стандартного раствора α -ЦД с концентрацией 10 мМоль/л точную навеску 97,2 мг α -ЦД переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

8) Для приготовления стандартного раствора β -ЦД с концентрацией 10 мМоль/л точную навеску 113,5 мг β -ЦД переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

9) Для приготовления стандартного раствора γ -ЦД с концентрацией 10 мМоль/л точную навеску 129,7 мг γ -ЦД переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

10) Для приготовления стандартного раствора сукцинил- α -ЦД с концентрацией 10 мМоль/л точную навеску 157,1 мг сукцинил- α -ЦД переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

11) Для приготовления стандартного раствора гидроксипропил- α -ЦД с концентрацией 10 мМоль/л точную навеску 118,5 мг гидроксипропил- α -ЦД переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

12) Для приготовления стандартного раствора метил- β -ЦД с концентрацией 10 мМоль/л точную навеску 131,2 мг метил- β -ЦД переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

13) Для приготовления стандартного раствора гидроксипропил- γ - ЦД с концентрацией 10 мМоль/л точную навеску 157,6 мг гидроксипропил- γ - ЦД переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл заполняют водой до половины, перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

Подготовка проб:

1) В пробирки объёмом 15 мл добавляют 2 мл стандартного раствора ресвератрола и 1 мл воды.

2) В пробирки объёмом 15 мл добавляют 0,3 мл стандартного раствора солюбилизатора и 2,7 мл воды.

3) В пробирки объёмом 15 мл добавляют 0,3 мл стандартного раствора солюбилизатора и 0,7 мл воды и 2 мл стандартного раствора ресвератрола.

Таким образом, определение влияния солюбилизаторов на спектрофотометрические характеристики ресвератрола проводили в буферных растворах, содержащих 1 мМ солюбилизатора и ресвератрола в концентрации 0,025 мМ, т.е. существенно меньшей его собственной растворимости в воде [70]. Использованный многократный избыток солюбилизатора обеспечивал нахождение всего ресвератрола в солюбилизированной форме. Снятие спектров поглощения производили после инкубации приготовленных проб в течение 1 часа при температуре 24°C в темноте.

При определении параметров солюбилизации к 10 мг ресвератрола в круглодонных герметично закрывающихся стеклянных пробирках объёмом 5 мл добавляли по 1,5 мл буферных растворов, содержащих от 2 до 10 мМ солюбилизаторов. Указанное количество ресвератрола обеспечивало наличие его осадка во всех экспериментах. Образцы инкубировали в темноте при 37°C и встряхивании с частотой 180 об/мин на встряхивателе в течение 24 часов. После инкубации стеклянные пробирки помещали в прогретые до температуры 37°C центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 5 минут при 200 g на центрифуге. По окончании центрифугирования из пробирок отбирали супернатант, разводили его используемым в данном эксперименте буфером до

оптической плотности менее 4 Б в максимуме поглощения ресвератрола и проводили спектрофотометрические измерения с использованием в качестве образцов сравнения растворов солюбилизаторов, разведенных буфером до концентрации, имеющей место в образце с ресвератролом [24, 29, 33].

Оптимальный состав композиции с солюбилизатором определяется молярным коэффициентом солюбилизации (K_{mc}):

$$K_{mc} = \frac{[L]_c}{C_c}, \quad (1)$$

где $[L]_c$ – молярная концентрация ресвератрола в солюбилизированной форме при молярной концентрации солюбилизатора C_c и насыщенной концентрации свободного ресвератрола (собственная растворимость активной субстанции) в водной фазе. При таком соотношении будет иметь место полная солюбилизации ресвератрола, тогда как при его превышении часть может оставаться в осадке, а при значениях меньше этой величины будет использована не вся возможность солюбилизатора, включаемого в рецептуру.

Кажущаяся концентрация ресвератрола в присутствии солюбилизатора равна сумме концентраций свободной $[L]$ и солюбилизированной $[L]_c$ частей ресвератрола в растворе. Принцип аддитивности поглощения света и закон Бугера-Ламберта-Бера позволяют записать выражения для оптической плотности раствора ресвератрола в присутствии солюбилизатора:

$$D = D_L + D_{L_c} = \varepsilon_L \cdot [L] \cdot l + \varepsilon_{L_c} \cdot [L]_c \cdot l, \quad (2)$$

где, D_L и D_{L_c} вклад в оптическую плотность раствора свободного ресвератрола и ресвератрола в составе солюбилизатора, ε_L и ε_{L_c} молярные коэффициенты поглощения свободного ресвератрола и ресвератрола в составе солюбилизатора, l – длина оптического пути в кювете спектрофотометра. В случае избытка ресвератрола и его неполного растворения имеет место равенство концентрации ресвератрола в свободной форме его собственной растворимости $[L]=[L]_0$ вследствие равновесия с твердой (нерастворенной) фазой. С учетом этого уравнение (2) переписывается

$$\frac{D}{\varepsilon_L \cdot l} = [L]_0 + \frac{\varepsilon_{L_c}}{\varepsilon_L} \cdot [L]_c . \quad (3)$$

Откуда с учетом (1)

$$\frac{D}{\varepsilon_L \cdot l} = [L]_0 + \frac{\varepsilon_{L_c}}{\varepsilon_L} \cdot K_{mc} \cdot C_c . \quad (4)$$

При солюбилизации за счет образования комплексов включения LS (S – молекула комплексообразователя, например, ЦД) концентрация ресвератрола в солюбилизированной форме равна концентрации комплексов включения и рассчитывается по формуле [176]:

$$[L]_c = [LS] = \frac{K_k \cdot [L]_0}{1 + K_k \cdot [L]_0} \cdot C_c , \quad (5)$$

где K_k – константа комплексообразования. Исходя из (1) и (5) при солюбилизации с образованием комплексов включения:

$$K_{mc} = \frac{K_k \cdot [L]_0}{1 + K_k \cdot [L]_0} . \quad (6)$$

При использовании в качестве солюбилизатора мицеллообразующего вещества концентрация ресвератрола определяется коэффициентом её распределения между мицеллярной и водной фазами и вычисляется по формуле [178]:

$$[L]_c = K_m \cdot [L]_0 \cdot (C_c - [S]_{KKM}) , \quad (7)$$

где K_m – коэффициент распределения ресвератрола между мицеллярной и водной фазами, $[S]_{KKM}$ – критическая концентрация мицеллообразования солюбилизатора, а $C_c - [S]_{KKM}$ – концентрация мицеллярной фазы. Исходя из (1) и (7) при мицеллярной солюбилизации

$$K_{mc} = K_m \cdot [L]_0 \cdot \left(1 - \frac{[S]_{KKM}}{C_c} \right) . \quad (8)$$

Поскольку у исследуемых мицеллообразующих солюбилизаторов $[S]_{\text{ккм}} \leq 10^{-4}$ М [136, 172], то при используемых в работе экспериментальных концентрациях этих вспомогательных веществ имеет место соотношение $C_c \gg [S]_{\text{ккм}}$. Это позволяет переписать (8) в виде

$$K_{\text{мс}} = K_{\text{м}} \cdot [L]_0. \quad (9)$$

Согласно формулам (6) и (9) в условиях проведенных экспериментов коэффициент молярной солюбилизации $K_{\text{мс}}$ не зависит от концентрации солюбилизатора, что указывает на возможность использования линейного уравнения (4) для обработки экспериментальных данных. Получаемое значение $K_{\text{мс}}$ с учетом уравнения (1) позволяет рассчитать оптимальное содержание (α) ресвератрола в композиции с солюбилизатором в весовых процентах

$$\alpha = \frac{\mu_L \cdot [L]_c}{\mu_L \cdot [L]_c + \mu_c \cdot C_c} \cdot 100 = \frac{\mu_L}{\mu_L + \mu_c \cdot K_{\text{мс}}} \cdot 100, \quad (10)$$

где μ_L и μ_c – молярные массы ресвератрола и солюбилизатора соответственно [24].

3.2. Определение спектральных характеристик ресвератрола в различных буферах

Солюбилизация ресвератрола как при включении в мицеллы, так и при образовании молекулярных комплексов сопровождается значительным снижением поглощения и небольшим сдвигом положения максимума поглощения. На рисунке 3.1 проиллюстрированы характерные изменения спектров поглощения ресвератрола, вызываемые разными видами солюбилизаторов на примере отдельных представителей, а в таблицах 3.1 и 3.2 приводятся положения максимумов ($\lambda_{\text{макс}}$) и рассчитанные по экспериментальным данным молярные коэффициенты поглощения для всех исследовавшихся солюбилизаторов. В кислой среде с рН 1,2 (рисунок 3.1А и таблица 3.1) все

исследовавшиеся солюбилизаторы вызывают сходные изменения спектра поглощения ресвератрола как по величине снижения поглощения, так и по сдвигу максимума в сторону увеличения длины волны. Однако при близком к нейтральному рН 6,8 (рисунок 3.2 Б и таблица 3.2) включение в молекулярные комплексы приводит к более выраженному снижению поглощения ресвератрола, чем при включении в мицеллы. Кроме того, при данном рН имеет место различная направленность сдвига максимума поглощения в солюбилизаторах разных видов. Так, практически для всех неионогенных ПАВ, за исключением высокомолекулярного полуксамера Р407, сохраняется сдвиг в сторону увеличения длины волны, а для всех ЦД сдвиг максимума поглощения ресвератрола происходит в коротковолновую область. Одинаковая с ЦД направленность сдвига максимума поглощения в присутствии полуксамера Р407 может отражать сходство микроокружения ресвератрола в этих солюбилизаторах. В частности, из-за большей величины молекул Р407 по сравнению с другими использованными неионогенными ПАВ в его мицеллах может иметь место ограничение доступности молекулы ресвератрола для молекул воды, сходное с ограничением в полости молекул ЦД.

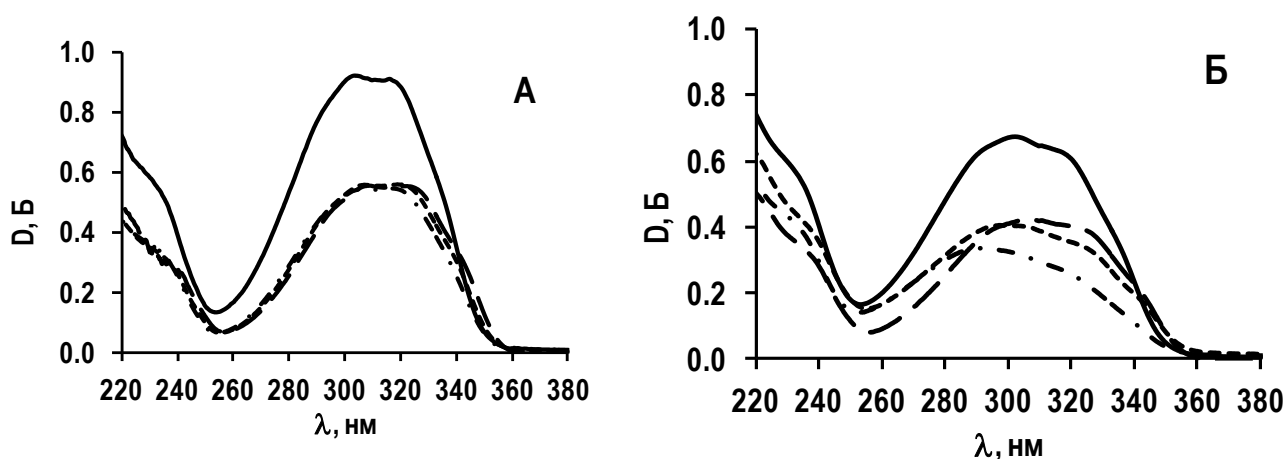


Рисунок 3.1 - Спектры поглощения ресвератрола в присутствии солюбилизаторов разных видов и без них при:

А. рН 1,2; Б. 6,8.

— - без солюбилизатора, - - - - Р407, — — Т20 и — · - · α -ЦД

Таблица 3.1 – Спектральные характеристики ресвератрола в солянокислом буфере рН 1,2 в присутствии солюбилизаторов и без них

Солюбилизатор	$\lambda_{\text{макс}}$ в присутствии солюбилизатора, нм	Молярный коэффициент поглощения ресвератрола при $\lambda_{\text{макс}}$, М ⁻¹ ·см ⁻¹	
		в присутствии солюбилизатора	без солюбилизатора
-	303,8	-	41078
P188	306,2	25642	40826
P407	307,0	24796	40707
T20	308,2	25301	40662
T40	308,4	25137	40603
T80	308,8	24617	40544
α -ЦД	306,2	24157	40826
β -ЦД	305,6	24989	40960
γ -ЦД	304,0	26980	41034
гидроксипропил- α -ЦД	305,2	12916	40989
гидроксипропил - γ -ЦД	304,0	21988	41034
метил- β -ЦД	306,2	22939	40826
сукцинил- α -ЦД	307,4	22849	40677
Примечание: В таблицах 3.1 и 3.2 в первой строке приведены значения для ресвератрола без добавления солюбилизатора.			

Таблица 3.2 – Спектральные характеристики ресвератрола в фосфатном буфере рН 6,8 в присутствии солюбилизаторов и без них

Солюбилизатор	$\lambda_{\text{макс}}$ в присутствии солюбилизатора, нм	Молярный коэффициент поглощения ресвератрола при $\lambda_{\text{макс}}$, М ⁻¹ ·см ⁻¹	
		в присутствии солюбилизатора	без солюбилизатора
-	301,8	-	30085
P188	305,2	21676	29773
P407	299,0	18111	29817
T20	306,6	18883	29475
T40	304,6	17427	29877
T80	304,6	17575	29877
α -ЦД	292,0	14931	28317
β -ЦД	292,0	15228	28317
γ -ЦД	294,8	15911	29000

Продолжение таблицы 3.2

Солубилизатор	$\lambda_{\text{макс}}$ в присутствии солубилизатора, нм	Молярный коэффициент поглощения ресвератрола при $\lambda_{\text{макс}}$, $\text{M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$	
		в присутствии солубилизатора	без солубилизатора
гидроксипропил- α -ЦД	290,0	9196	27841
гидроксипропил - γ -ЦД	290,6	14470	27633
метил- β -ЦД	290,6	13638	27841
сукцинил- α -ЦД	290,0	13653	27633

Представленные в таблицах 3.1 и 3.2 молярные коэффициенты поглощения были использованы для обработки данных по солубилизации ресвератрола в соответствии с уравнением (4). На рисунке 3.2 приведены примеры характерных зависимостей $\frac{D}{\varepsilon_L \cdot l}$ от $\frac{\varepsilon_{L_c}}{\varepsilon_L} \cdot C_c$ для отдельных представителей разных видов солубилизаторов, а в таблице 3.3 полученные по результатам линейного регрессионного анализа молярные коэффициенты солубилизации ресвератрола для всех использованных солубилизаторов. Также в таблице 6 приведены оптимальные составы самодиспергирующихся композиций ресвератрола с солубилизаторами, рассчитанные по уравнению (10) с использованием полученных значений $K_{\text{мс}}$.

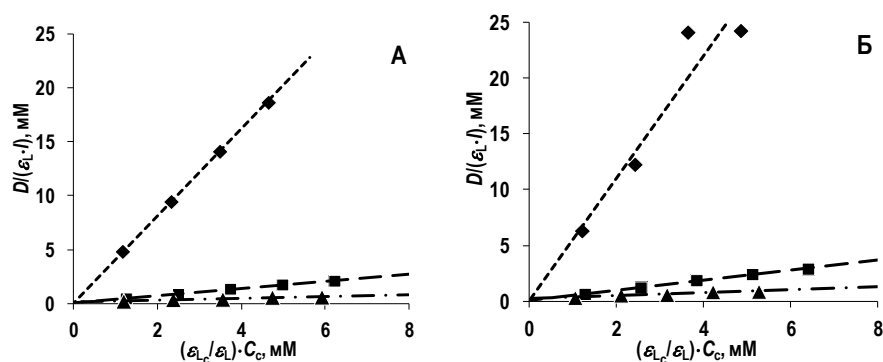


Рисунок 3.2 – Солубилизация ресвератрола солубилизаторами разных видов при pH 1,2 (А) и 6,8 (Б). Точки отображают экспериментальные данные, а линии проведены с использованием коэффициентов, полученных в результате линейного регрессионного анализа этих данных

--◆-- - P407, —■— - T20, —▲— - α -ЦД

Таблица 3.3 – Коэффициенты молярной солубилизации ресвератрола при pH желудочного и кишечного отделов ЖКТ и оптимальные составы самодиспергирующих композиций с солубилизаторами

Солубилизатор	Молярная масса солубилизатора, г/моль	Молярный коэффициент солубилизации ресвератрола		Содержание ресвератрола в оптимальной самодиспергирующей композиции, %	
		pH 1,2	pH 6,8	pH 1,2	pH 6,8
P188	8400	0,35	0,42	1,0	1,1
P407	12600	3,98	5,68	6,7	9,3
T20	1227	0,33	0,45	5,8	7,7
T40	1277	0,40	0,57	6,6	9,2
T80	1310	0,42	0,58	6,8	9,2
α -ЦД	972	0,08	0,13	1,9	3,0
β -ЦД	1135	0,16	0,23	3,2	4,4
γ -ЦД	1297	0,08	0,12	1,4	2,1
гидроксипропил- α -ЦД	1185	0,32	0,22	5,8	4,1
гидроксипропил - γ -ЦД	1576	0,15	0,29	2,2	4,0
метил- β -ЦД	1312	0,58	0,77	9,2	11,9
сукцинил- α -ЦД	1572	0,10	0,12	1,4	1,7
Примечание: *Погрешность метода полученных результатов составляет $\pm 5\%$. ** В расчете содержания ресвератрола в самодиспергирующей композиции по уравнению (10) использовалась значение молярной массы 228 г/моль. Молекулярные массы солубилизаторов приведены в соответствии с данными производителей.					

Согласно результатам исследований, по сравнению с нейтральной средой в кислой среде практически все солубилизаторы отличаются меньшими молярными коэффициентами солубилизации K_{mc} ресвератрола. Исключение составляет гидроксипропил- α -ЦД, у которого в нейтральной среде этот параметр немного ниже, чем в кислой. Мицеллообразующие солубилизаторы в основном проявляют более высокую солубилизирующую способность по сравнению с ЦД независимо от кислотности. При этом обращает на себя внимание очень большое значение K_{mc} у полуксамера P407. Немодифицированные ЦД и модифицированный янтарной кислотой сукцинил- α -ЦД обладают низкой способностью солубилизировать ресвератрол, тогда как модифицированные

гидроксипропил- и метил-ЦД характеризуются существенно более высокой солюбилизирующей способностью. Особо выделяется метил-β-ЦД, у которого значение K_{mc} не только самое большое среди ЦД, но и превосходит значения, полученные для всех мицеллообразующих солюбилизаторов, кроме Р407.

Переход к имеющему большее практическое значение оптимальному содержанию ресвератрола в самодиспергирующейся композиции, которое рассчитывается с использованием полученных значений K_{mc} , ставит особо выделяющийся по значению K_{mc} Р407 на один уровень с полисорбатами. Одновременно другой полоксамер Р188 оказывается солюбилизатором с самым низким оптимальным содержанием ресвератрола в композиции. Описанное снижение положения полоксамеров в ряду привлекательности солюбилизаторов в значительной степени отражает их большие молекулярные массы. Использование в качестве характеристики солюбилизатора оптимального содержанию ресвератрола в самодиспергирующейся композиции сохраняет положение ЦД как уступающих мицеллообразующим солюбилизаторам, за исключением метил-β-ЦД, который стал лучшим среди всех исследовавшихся солюбилизаторов.

В соответствии с уравнением (4), кроме оценки K_{mc} , регрессионный анализ результатов экспериментов по солюбилизации позволяет получить значения собственной растворимости ресвератрола при использовавшихся рН, которые соответствуют разным отделам желудочно-кишечного тракта. Усредненные по всем солюбилизаторам данные дают для рН 1,2 величину $[L]_0 = 0,13 \pm 0,02$ мМ, а для рН 6,8 $[L]_0 = 0,18 \pm 0,03$ мМ. Приведенные величины подтверждают низкие значения и недостоверный характер различий собственной растворимости ресвератрола при рН желудочного и кишечного отделов, что указывает на целесообразность разработки композиции этого полифенола с солюбилизатором для повышения её растворимости во всех отделах желудочно-кишечного тракта [24, 29].

3.3. Выбор общего растворителя

Высокая температура плавления (253-255°C) ресвератрола и нестабильность при нагревании делает не целесообразно использование для получения композиций его сплавления с твердыми солюбилизаторами или растворение при высоких температурах в жидких солюбилизаторах [70]. Поэтому наиболее подходящим методом является растворение ресвератрола и солюбилизатора в интересующем соотношении в общем растворителе с последующим его удалением. Использование растворения в общем растворителе является наиболее подходящим технологическим подходом, поскольку позволяет в мягких условиях получать композиции в виде растворов биологически активного вещества в солюбилизаторе, обладающие большей стабильностью и обеспечивающие лучшую растворимость ресвератрола по сравнению с дисперсиями [115]. В качестве наиболее подходящего растворителя выступает этанол, в котором растворим ресвератрол [154] и легко растворимы полоксамеры и полисорбаты [136, 172]. Однако в нем практически не растворимы немодифицированные ЦД, тогда как модифицированные растворимы умеренно [76, 90].

Проведенные исследования солюбилизации ресвератрола с полоксамерами, полисорбатами, циклодекстринами показало, что получаемое исходя из молярного коэффициента солюбилизации оптимальное содержание полифенола в композициях с данными солюбилизаторами имеет значения 1-10%. Далее были получены композиции ресвератрола с выбранными в предыдущей главе солюбилизаторами с применением технологии, использующей растворение в общем растворителе [24, 29, 34].

Были проведены предварительные исследования стабильности ресвератрола с солюбилизаторами после удаления растворителя. Результаты представлены в таблице 3.5. Ресвератрол в композиции с полоксамером 407, твином-80 и метил-β-ЦД без вспомогательных веществ теряет свои органолептические свойства. В связи с этим было принято решение о возможности использования для стабилизации ресвератрола в композициях органических кислот: лимонной (citric

acid, CA), образующей хелатные соединения с металлами [121], и аскорбиновой (ascorbinic acid, AA), обладающей восстановительной способностью [81].

3.3.1. Приготовление рабочих композиций

Для выполнения данного этапа исследований были использованы следующие реактивы и растворители: лимонная кислота б/в, аскорбиновая кислота, глицерин, спирт этиловый 95%, метанол, ацетонитрил, вода, кислота уксусная. Более подробные характеристики реактивов и растворителей представлены в главе 2 (таблица 2.3).

Исследования возможности получения композиций ресвератрола с солюбилизаторами методом удаления растворителя, а также возможности включения в эти композиции стабилизирующих добавок проходили по далее описанным этапам.

Органический растворитель, выбранный в качестве общего, может оказывать значительное влияние на свойства получаемых композиций. Так как переход солюбилизата в мицеллы или комплексы включения происходит через образование молекулярного раствора, общий растворитель должен гарантировать хорошее растворение как солюбилизатора, так и действующих веществ. Это обеспечит однородную структуру получаемой самодиспергирующейся композиции и её стабильность. Данные о растворимости солюбилизаторов были получены из справочной литературы.

Включаемые в состав композиций стабилизаторы – аскорбиновая кислота и лимонная кислота – малорастворимы в ацетоне, растворимы в метаноле и этаноле. Этот факт исключает ацетон из списка потенциальных общих растворителей.

Между этанолом и метанолом выбор был сделан в пользу последнего. Это обусловлено тем, что его большая, по сравнению с этанолом, гидрофильность обеспечивает лучшую растворимость органических кислот, меньшая $t_{кип}$ (65°C) облегчает процедуру удаления растворителя, а меньшая взрывоопасность может способствовать повышению безопасности технологического процесса.

3.3.2. Определение рабочей концентрации стабилизаторов

После выбора метанола в качестве общего растворителя, проводилась оценка растворимости стабилизирующих кислот в нём.

На аналитических весах в круглодонные герметично закрывающиеся пробирки объемом 5 мл отвешивали 200 мг лимонной кислоты в одну и 200 мг аскорбиновой кислоты в другую, после чего добавляли метанола до 1 г. Закрытые пробирки встряхивали вручную в течение 10 мин, после чего проводили визуальную оценку полноты растворения в проходящем свете. При наличии нерастворенных частиц вещества пробирку помещали в ультразвуковую ванну Bandelin Sonorex Digitec (Германия) на 5 мин при $t=40^{\circ}\text{C}$. Если после этого вещество растворялось не полностью, производили разведение метанолом до образования раствора с массовой долей кислоты 10%, дальнейшие операции по растворению проводили аналогично первому раствору.

По результатам исследования обнаружено, что аскорбиновая кислота в концентрации 20% по массе нерастворима в метаноле, концентрация 10% медленно растворима (после применения УЗ-мешалки); лимонная кислота хорошо растворима в метаноле и при 20% концентрации.

Исходя из предполагаемой способности аскорбиновой кислоты образовывать окислительно-восстановительную пару с ресвератролом, для использования в композициях исходно было выбрано её эквимольное количество. Для композиции с содержанием ресвератрола 10% оно составило 8%.

Ввиду возможности образования пересыщенных растворов органических кислот в солюбилизаторе Т80, была проведена предварительная оценка устойчивости растворов используемых ингредиентов в данном солюбилизаторе. С этой целью на аналитических весах в круглодонные герметично закрывающиеся пробирки объемом 5 мл отвешивали раствор 10% аскорбиновой или лимонной кислоты в метаноле и полисорбат 80 с расчётом получения 1 г готовой композиции с содержанием кислоты 10% по массе. После ручного встряхивания и отгона растворителя под вакуумом пробирки оставляли на сутки в тёмном месте

при комнатной температуре, а затем проводили визуальную оценку стабильности полученных растворов. Композиция Т80 с содержанием лимонной кислоты оказалось устойчивой – в ней не наблюдалось никаких видимых изменений, в то время как в композиции с аскорбиновой кислотой наблюдалось выпадение осадка.

Учитывая способность лимонной кислоты улучшать растворимость ряда веществ в полярных растворителях, была оценена устойчивость совместного раствора в Т80 аскорбиновой и лимонной кислот в присутствии ресвератрола. Необходимые растворы готовили растворением всех компонентов в равном их суммарной массе количестве метанола с последующей его отгонкой под вакуумом. После отгонки растворителя в растворах с расчетным содержанием каждого из твердых ингредиентов 5 и 10 % от общей массы композиции наблюдалось образование осадка. Для улучшения растворимости было оценено влияние увеличения полярности растворителя за счет добавления в композиции глицерина (Gly) в количестве равном содержанию каждого из твердых ингредиентов. Скрининг композиций показал, что стабильность раствора ресвератрола в твине-80 напрямую зависела от природы и концентрации добавок. Так, 10% концентрация отдельных ингредиентов отодвигала момент выпадения осадка до 24 часов после отгонки растворителя, а при 5% содержании осадок формировался в течение нескольких дней. Оптимальные результаты были достигнуты при использовании комбинации лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты и глицерина (по 2,5% каждого) в сочетании с 10% ресвератрола. Данный состав не проявлял признаков нестабильности в течение месяца наблюдений, в связи с чем был выбран базовым, содержащим Т80.

Таким образом, приготовление композиции на основе полисорбата 80 с эквимольным ресвератролу количеством аскорбиновой кислоты (8% мас.) не представлялось возможным ввиду её неустойчивости, поэтому из эксперимента данный состав был исключен. При этом, несмотря на отсутствие аналогичных проблем для Р407 и ЦД, было решено изготовить композиции с содержанием аскорбиновой кислоты как 8%, так и 2,5% мас. для возможности сопоставления влияния на стабильность ресвератрола одинакового количества аскорбиновой

кислоты в композициях с разными солюбилизаторами. Для композиций с лимонной кислотой для всех солюбилизаторов была выбрана концентрация 5% мас., которая в два раза ниже концентрации, использовавшейся в описанном ранее эксперименте по оценке стабильности 10 % растворов используемых в работе органических кислот в Т80. В качестве основания для такого выбора послужило то, что предварительная проверка устойчивости композиции в виде раствора в Т80 10% ресвератрола и уменьшенного для снижения нагрузки на растворитель до 5% количества лимонной кислоты показала отсутствие образования осадка в течение более чем месяца.

3.3.3. Состав композиций ресвератрола с различными стабилизаторами

На основании результатов описанных предварительных испытаний для дальнейших исследований были отобраны составы композиций ресвератрола с солюбилизаторами и стабилизаторами, представленные в таблице 3.4.

Таблица 3.4 - Состав композиций ресвератрола с различными группами солюбилизаторов

Состав №	Содержание веществ, %						
	Ресвератрол	Лимон. к-та	Аскорб. к-та	Глицерин	М-β-ЦД	Т80	Р407
1	10	—	—	—	90	—	—
2	10	5	—	—	85	—	—
3	10	—	2,5	—	87,5	—	—
4	10	—	8	—	82	—	—
5	10	—	—	—	—	90	—
6	10	5	—	—	—	85	—
7	10	5	2,5	2,5	—	80	—
8	10	—	—	—	—	—	90
9	10	5	—	—	—	—	85
10	10	—	2,5	—	—	—	87,5
11	10	—	8	—	—	—	82

Для получения рабочих композиций на аналитических весах в колбы для выпаривания объемом 50 мл отвешивали точные навески ресвератрола,

стабилизаторов и солюбилизаторов согласно таблице 3.4, добавляли равное массе конечного продукта количество метанола и устанавливали колбы на роторный испаритель Heidolph Hei-VAP Advantage (Германия), где в течение 30 минут осуществлялось перемешивание раствора с частотой вращения колбы 60 об/мин при нагревании на водяной бане с $t=40^{\circ}\text{C}$. После чего в системе создавался вакуум с помощью вакуумного насоса Vacuubrand PC 3001 VarioPro (Германия), проводили постепенное снижение давления до 5,0 мбар. В таком режиме отгон растворителя осуществлялся в течение 1 часа. Твердые композиции извлекали колб, измельчали, растирая в фарфоровой ступке, и просеивали через сито с отверстиями диаметром 3 мм. После этого композиции выдерживали 2 часа при вакууме менее 0,5 мбар, создаваемом форвакуумным насосом EVD 6 (Eurovacuum, Нидерланды).

После отгонки метанола полученные композиции брали на анализ на предмет наличия остаточных органических растворителей согласно ОФС. 1.1.0008 «Остаточные органические растворители». Исследование проводили методом ГЖХ. Количество выявленного метанола составляет не более 1800 ppm (18,0 мг/сут), что соответствует требованиям ОФС. 1.1.0008 «Остаточные органические растворители» - не более 3000 ppm (30,0 мг/сут).

Полученные композиции имели внешний вид, соответствующий входящему в их состав солюбилизатору (таблица 3.5). Присутствие аскорбиновой кислоты в количестве 2,5 % сопровождалось получением неокрашенных композиций, тогда как все остальные композиции имели очень слабый, в большинстве случаев коричневатый, оттенок. Таким образом, наличие в композициях аскорбиновой кислоты в качестве восстановителя приводит к отсутствию явных признаков химических превращений компонентов композиций и улучшению органолептических показателей продукта (получение белого цвета). Однако высокое содержание этого ингредиента может приводить к усилению химических превращений в композициях. Присутствие в составе композиций органических кислот обусловило низкие значения pH соответствующих водных растворов,

тогда как при отсутствии используемых в работе стабилизирующих добавок рН растворов был близок к нейтральному.

Таблица 3.5 – Свойства исследовавшихся композиций ресвератрола с солубилизаторами с добавлением вспомогательных веществ и без них

Состав №	Композиция	Внешний вид	Цвет	pH 1% водного раствора при 22°C
1	I* + P407	Крупнодисперсный порошок аморфного вещества	С коричневатым оттенком	6,2
2	I + P407 + CA		С желтоватым оттенком	3,0
3	I + P407 + 2,5% AA		Белый	3,4
4	I + P407 + 8% AA		С сероватым оттенком	3,2
5	I + T80	Прозрачная вязкая жидкость	Светло коричневая	6,2
6	I + T80 + CA		С коричневатым оттенком	3,0
7	I + T80 + CA + AA+Gly		Бесцветная	3,1
8	I + CD	Мелкодисперсный порошок карамеле-подобного вещества	С желтоватым оттенком	5,1
9	I + CD + CA		С розоватым оттенком	3,1
10	I + CD + 2,5% AA		Белый	3,5
11	I + CD + 8% AA		С коричневатым оттенком	3,3
Примечание: I – ресвератрол				

Таким образом, метод удаления растворителя выступает целесообразным способом получения композиций ресвератрола с различными солюбилизаторами. При этом наиболее привлекательным общим растворителем, позволяющим вводить в состав более гидрофильные вещества, выступает метанол.

Введение в композиции стабилизирующих добавок возможно. Применение Р407 и метил- β -ЦД позволяет включать в состав композиций с массовой долей ресвератрола 10% эквимольное полифенолу количество аскорбиновой кислоты, в то время как использование Т80 в качестве солюбилизатора требует понижения концентрации органической кислоты для получения устойчивых композиций.

3.4. Исследования композиций ресвератрола

Влияние солюбилизаторов на растворимость ресвератрола оценивали с помощью on-line системы растворения DT 820 ERWEKA (Германия) с аппаратом «лопастная мешалка» и спектрофотометра UV-1800 Shimadzu (Япония), соединенных проточной системой, и работающих под управлением программного обеспечения Disso.Net 2.9.0.0 последовательно в среде солянокислого и фосфатного буферного раствора при $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Процедуру исследования растворения проводили в следующей последовательности. В сосуды аппарата помещали по 500 мл растворяющей среды, термостатированной при $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Перед запуском мешалки в каждый стакан вносили точную навеску исследуемого образца, эквивалентную 50 или 100 мг ресвератрола, а также навеску субстанции ресвератрола в количестве 50 мг, значительно превышающую количество, необходимое для достижения насыщения.

Перемешивание осуществляли со скоростью 50 об/мин для композиций с Р407 и метил- β -циклодекстрином и 100 об/мин – для композиции с Т80. Общая продолжительность теста составляла 60 минут. Отбор проб производили с интервалом в 6 минут в режиме «с возвратом», используя иглы, оснащенные фильтрами «Poroplast» с диаметром пор 20 мкм. Для построения кинетических

кривых растворения измеряли оптическую плотность отобранных проб при длине волны 360 нм. Указанная длина волны не соответствует максимуму (около 306 нм) пика в спектре поглощения ресвератрола и находится на самом краю этого пика. Отказ от измерений в максимуме поглощения связан с высокой оптической плотностью раствора ресвератрола в этой области при имеющихся место концентрациях и выходом за верхний предел измерений спектрофотометра. Сделанный переход к измерениям при длине волны, которой соответствует меньший молярный коэффициент поглощения хромофора, позволяет избежать описанной проблемы.

3.4.1. Кинетика растворения ресвератрола и композиций

Солюбилизаторы способны оказывать значительное влияние на физико-химические свойства солюбилизируемого вещества. Для них отмечено влияние на спектральные свойства ресвератрола, а именно: смещение максимумов поглощения и снижение коэффициентов молярной экстинкции. Увеличение оптической плотности раствора при заданной длине волны и толщине поглощающего слоя является достоверной характеристикой повышения концентрации вещества в водной фазе. В связи с этим оценка высвобождения ресвератрола в буферные растворы проводилась по приросту оптической плотности раствора во времени.

Расчётная концентрация ресвератрола при условии полного растворения 50 мг субстанции в ходе эксперимента составила 0,1 мг/мл, что значительно превышает его насыщенную концентрацию – 0,03 мг/мл. В связи с чем в ходе каждого измерения отмечалось наличие осадка нерастворенного вещества в стакане с чистой субстанцией по окончании эксперимента. Во всех случаях растворения композиций наблюдалось полное растворение вносимого состава и значительное увеличение оптической плотности в области поглощения ресвератрола (рисунок 3.3). При этом выход профилей растворения на плато

связан с достижением концентрации насыщенного раствора для чистой субстанции и полным растворением вещества в случае композиций.

Применение композиций с солюбилизаторами также позволило достичь полного растворения 100 мг ресвератрола, что подтверждается соответствующим двукратным увеличением оптической плотности раствора.

Исследования растворения полученных композиций в воде при рН, соответствующих различным отделам желудочно-кишечного тракта показало (рисунок 3.3), что в обоих случаях наблюдается достаточно быстрое и полное их растворение в количестве 50 мг композиции в 500 мл, дающем расчетную концентрацию ресвератрола в растворе 0,1 мг/мл (0,44 мМ). Указанная концентрация не менее чем в два раза превышает известную по литературе растворимость ресвератрола (менее 0,05 мг/мл или 0,22 мМ) в воде [24, 155]. На рисунке 3.3 полученный результат отражает более высокое расположение кривых изменения оптической плотности в пробах с композициями, по сравнению с пробами, содержащими такое же количество чистого ресвератрола, который полностью не растворяется и обнаруживается в виде осадка в соответствующих стаканах тестера растворения. Увеличение растворяемых количеств композиций в два раза также сопровождается их полным растворением. Примеры кривых растворения соответствующих образцов на рисунке 3.3 характеризуются в два раза более высокими значениями оптических плотностей, что отражает в два раза большее содержание ресвератрола в растворе. Полученный результат позволяет утверждать, что ограничение на переход ресвератрола в растворенную в воде форму при использовании полученных композиций будет определяться растворимостью солюбилизатора в воде и в условиях полного растворения солюбилизатора всегда будет иметь место полное растворение ресвератрола.

Кинетика растворения композиций показывает, что по выходе кривых растворения на плато в случае Т80 и ЦД растворение композиций происходит быстро и завершается в течение 5 минут. Тогда как в случае Р407 растворение композиций происходит существенно медленнее и практически полностью завершается не ранее чем через 30 минут.

Одинаковый состав среды растворения в пробах с чистым ресвератролом и контрольных образцах позволил по измеряемым оптическим плотностям сделать расчет концентраций ресвератрола в указанных пробах в конце инкубации (60 минут). Эта концентрация составила 0.036 ± 0.004 мг/мл (0.16 ± 0.02 мМ) для рН 1.2 и 0.038 ± 0.005 мг/мл (0.17 ± 0.02) для рН 6.8, что близко к полученным ранее значениям насыщенных концентраций

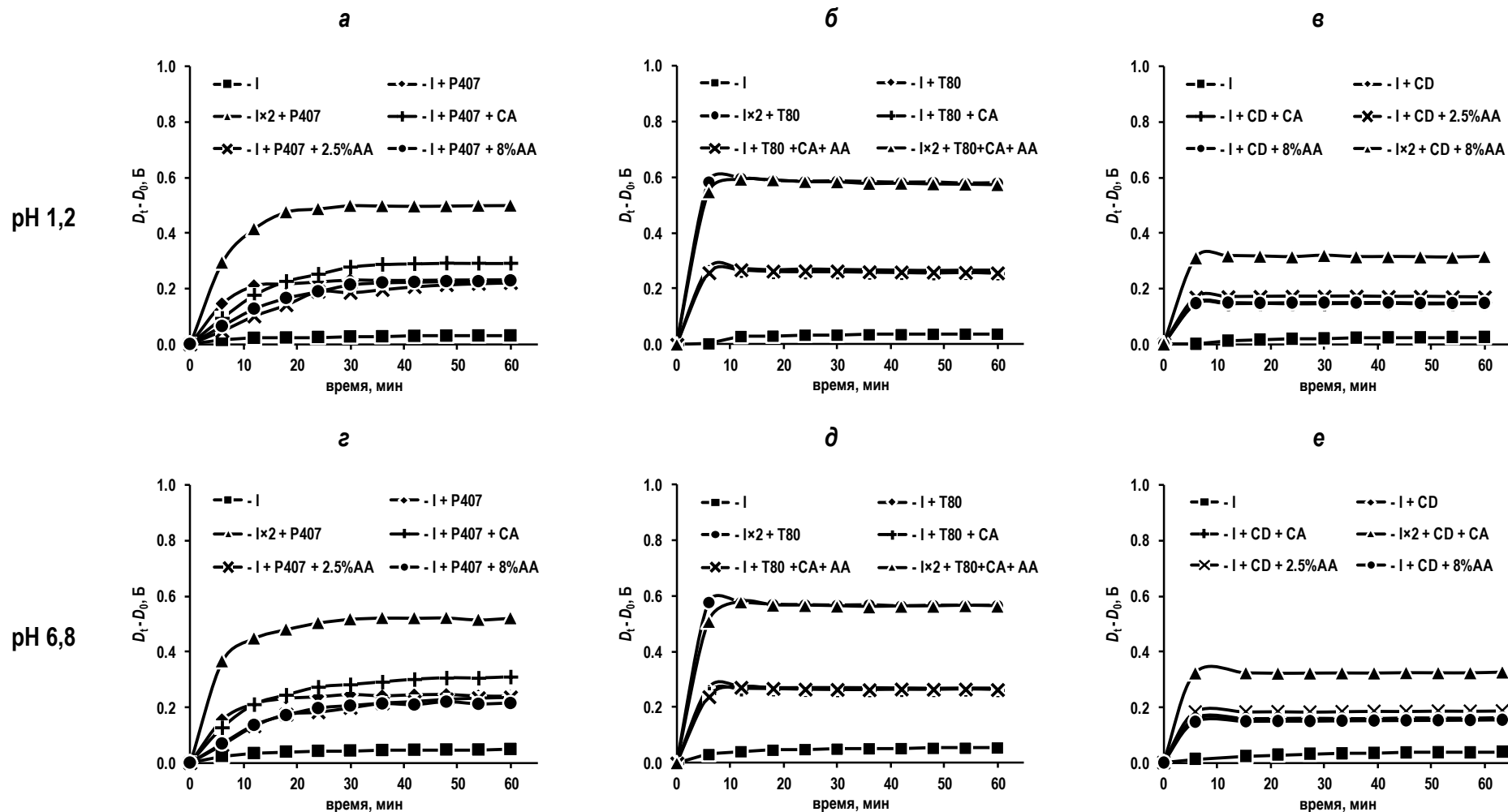


Рисунок 3.3 – Кинетика растворения ресвератрола и его композиций с солюбилизаторами при рН разных отделов ЖКТ.

По оси ординат отложен прирост оптической плотности растворов композиций при 360 нм.

а, г - композиции с P407; б, д – композиции с T80; в, е - композиции с циклодекстрином. Обозначение Ix2 использовано для проб с удвоенным количеством композиций

Использование стабилизирующих добавок не оказало значительного влияния на кинетику растворения композиций, однако включение их в состав композиций может повлиять на поглощение ресвератрола, что отмечено на примере композиций различного состава с Р407 (рисунок 3.3 а).

Полученные данные позволяют сделать вывод, что все используемые в эксперименте солюбилизаторы значительно повышают растворимость ресвератрола, не оказывая значимого влияния на скорость растворения. Это свидетельствует о перспективности применения самодиспергирующихся композиций ресвератрола в качестве эквивалента данной фармацевтической субстанции с улучшенными биофармацевтическими характеристиками.

3.4.2. Исследование стабильности композиций

В исследовании стабильности композиций при хранении изменение показателя «описание» было отмечено уже в первой контрольной точке. Внешний вид композиций сразу после изготовления был охарактеризован следующим образом: плотные аморфные хрупкие белые массы – композиции на основе Р407; прозрачные желтые вязкие жидкости – композиции на основе Т80; белые, похожие на кристаллические порошки – композиции с метил-β-ЦД в качестве солюбилизатора. На 6 день «ускоренного» экспериментального хранения, что соответствует 94 суткам хранения при комнатной температуре, наибольшие изменения были отмечены в композициях с Р407. Состав на основе этого солюбилизатора, не имеющий стабилизирующих добавок, приобрел выраженный коричневый оттенок, а все композиции с органическими кислотами приобрели яркое желтое окрашивание. Для композиции без добавок на основе Т80 было отмечено повышение интенсивности окрашивания с приобретением жидкостью коричневого оттенка и уменьшением прозрачности, в то время как композиции со стабилизаторами демонстрировали сохранение исходного внешнего вида. В композициях на основе метил-β-ЦД не было обнаружено видимых изменений.

При этом для всех составов, участвующих в эксперименте, отмечалось сохранение исходной концентрации ресвератрола в композиции (рисунок 3.4).

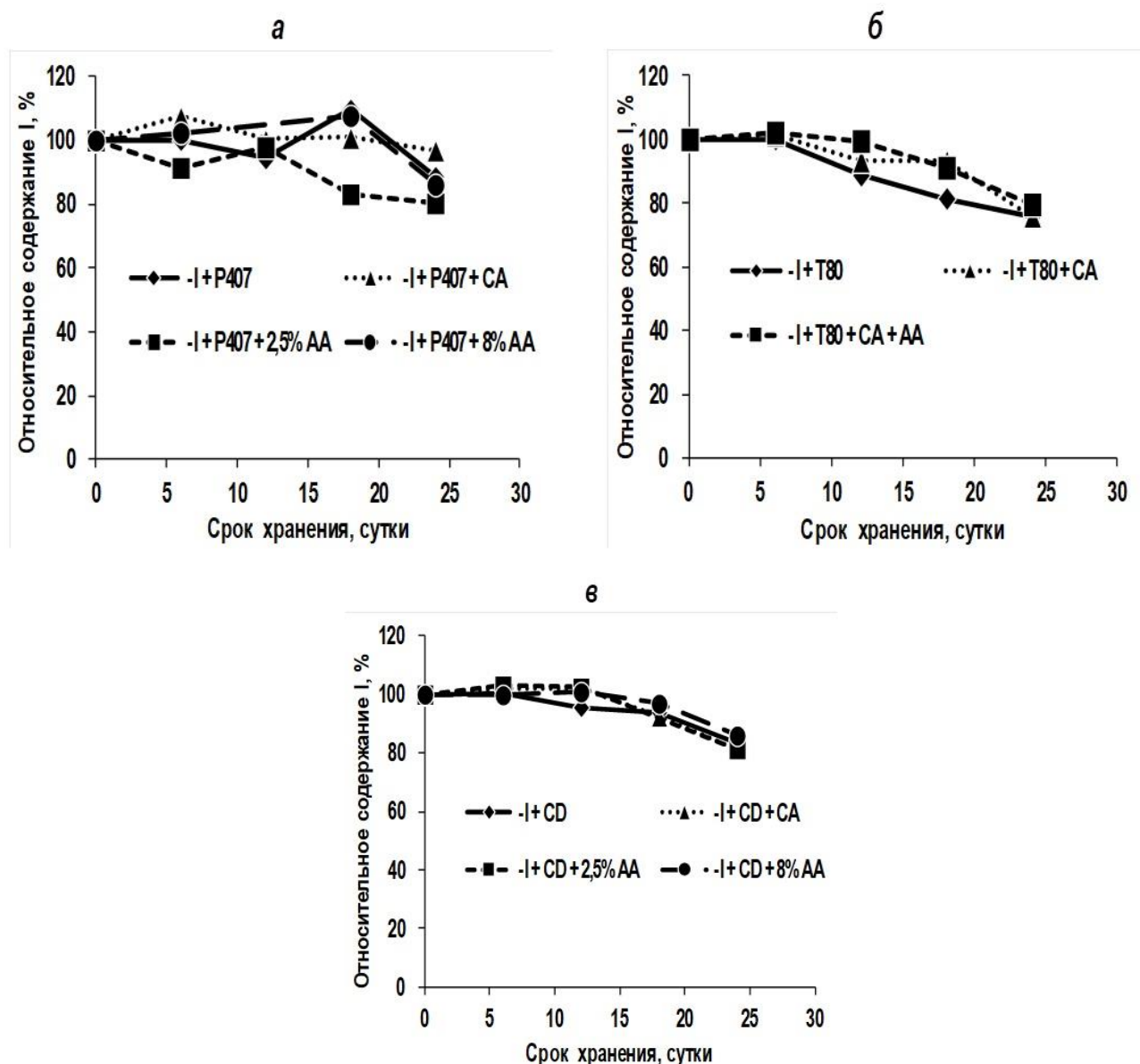


Рисунок 3.4 – Влияние хранения в условиях ускоренных исследований (51°C) на содержание ресвератрола в композициях с солюбилизаторами. По оси ординат отложено относительное содержание ресвератрола к его содержанию, измеренному сразу после приготовления композиций.

А. композиции с P407; Б – композиции с T80; В – композиции с CD.

На 12 сутки хранения для композиций без добавок на основе Р407 было отмечено усиление коричневого окрашивания с сохранением исходной аморфной структуры, одновременно с этим композиции со стабилизаторами демонстрировали потерю хрупкости и признаки размягчения полимера, наиболее выраженные у образца с содержанием 5% лимонной кислоты. Это указывает на понижение температуры стеклования Р407 (56-60°C для чистого полимера) в кислой среде и является важной особенностью композиций ресвератрола на основе данного солюбилизатора со стабилизирующими добавками. Однако изменение агрегатного состояния не оказало значительного влияния на относительное содержание ресвератрола в композициях (рисунок 3.4 а).

Композиции на полисорбате с применением стабилизирующих кислот незначительно увеличили интенсивность окрашивания, тогда как для композиции без добавок наблюдалось усиление коричневого окрашивания до насыщенного тёмно-бурого цвета, что соответствовало наибольшему снижению концентрации ресвератрола (до 88% от исходного значения) среди композиций на основе данного полимера (рисунок 3.4 б). Составы на основе метил-β-ЦД демонстрировали наибольшую стабильность, концентрация ресвератрола в данных композициях не опускалась ниже 95%. Для них было характерно приобретение розового оттенка порошков при сохранении их структуры, причем наиболее выраженное изменение цвета наблюдалось в композиции с добавлением 8% аскорбиновой кислоты, однако это не нашло отражения на графике изменения концентрации ресвератрола (рисунок 3.4 в), где наибольшее снижение концентрации демонстрирует композиция без добавок.

На 24 день «ускоренного» экспериментального хранения, что соответствует 1 году хранения при комнатной температуре, было принято решение о прекращении эксперимента, т.к. были выявлены признаки термолабильности композиций с ресвератролом: падение концентрации ресвератрола на 15-20% от исходного значения и изменение органолептических свойств в сторону появления более яркого окрашивания. Результаты эксперимента свидетельствуют о низкой стабильности самодесперирующихся композиций ресвератрола при длительном

хранении. Тем не менее композиции на основе метил- β -ЦД продемонстрировали наилучшее сохранение органолептических свойств (цвета). Включение стабилизирующих кислот также не обеспечило значительного улучшения стабильности. Однако для композиции на основе Р407, содержащей 5% лимонной кислоты, было отмечено наименьшее снижение концентрации ресвератрола среди всех образцов с данным солюбилизатором (рисунок 3.4 а).

Так как композиция ресвератрола с метил-бета-циклодекстрином и 2,5% ресвератрола сохраняет в ходе проведения эксперимента органолептические свойства и демонстрирует лучшую кинетику растворения, то данный состав был отобран на ускоренное хранение для установления предварительных условий хранения композиции. Результаты исследований предварительного срока годности представлены в приложении Г, таблицы Г.1 и Г.2. В связи с тем, что к концу третьего года долгосрочного хранения количество ресвератрола падает меньше установленного значения (менее 95%), то предложено хранить её в холодильнике при температуре $5 (\pm 3) ^\circ\text{C}$ в течение 2 лет.

При исследовании устойчивости ресвератрола в водных растворах композиций при разных значениях рН были получены профили изменения концентрации полифенола во времени, которые представлены на рисунке 3.5.

Все составы продемонстрировали высокую стабильность ресвератрола в растворах с рН 1,2. В течение 48 ч концентрация ресвератрола не опускалась ниже 99% от концентрации вещества в свежеприготовленном растворе композиции независимо от вида используемого солюбилизатора и стабилизирующих добавок [24, 29].

После проведения исследований были отобраны составы с метил-бета-циклодекстрином и твином 80 для исследований влияния ресвератрола в составе композиций на белковый и липидный обмен *in vivo*. Результаты проведенного эксперимента представлены в приложении Ж.

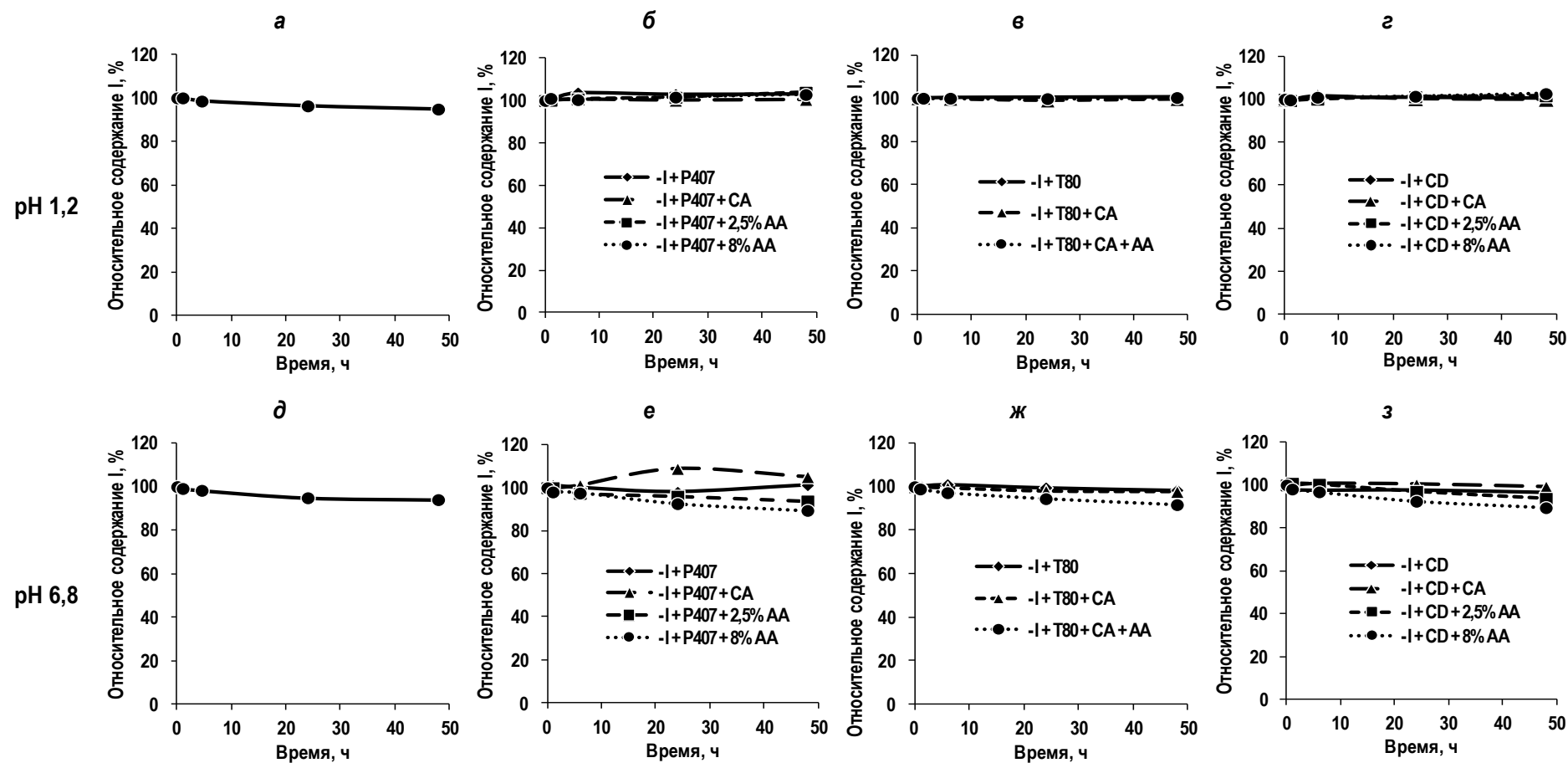


Рисунок 3.5 – Устойчивость ресвератрола в водных растворах с pH разных отделов ЖКТ после растворения композиций ресвератрола с солюбилизаторами. По оси ординат отложено относительное содержание I к его содержанию, измеренному сразу после приготовления раствора:

а, д – чистый I; б, е – композиции с P407; в, ж – композиции с T80; г, з – композиции с CD

3.5. Выводы к главе 3

В ходе проведенных исследований:

1. выбран общий для ресвератрола и солюбилизаторов растворитель - метанол;
2. установлены способы идентификации ресвератрола методами ВЭЖХ и спектрофотометрии. Время удержания (t_R) ресвератрола составляет 2 мин 20 сек (± 5 сек); максимумы поглощения при $pH = 1.2$ и $pH = 6.8$ равны $303,8 \pm 2$ нм и $301,2 \pm 2$ нм, соответственно;
3. определены спектральные характеристики ресвератрола при $pH 1,2$ и $pH 6,8$ в присутствии солюбилизаторов и без них;
4. рассчитано оптимальное содержание ресвератрола в самодиспергирующейся композиции – 10%;
5. определены коэффициенты молярной солюбилизации ресвератрола при $pH 1,2$ и $pH 6,8$. У метил- β -ЦД, полисорбата 80 и полоксамера 407, как у представителей каждой группы, K_{mc} наиболее высокий, что свидетельствует о прохождении солюбилизации в наибольшей степени.

В ходе проведенных исследований для дальнейшей разработки твердой лекарственной формы с ресвератролом была выбрана композиция ресвератрола с метил- β -ЦД и 2,5% аскорбиновой кислотой благодаря сохранению органолептических свойств и лучшей кинетике растворения.

Результаты проведенных исследований указывают на перспективность разработки препаратов с возможностью улучшения растворимости ресвератрола на основе его композиций с солюбилизаторами разных видов.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С РЕСВЕРАТРОЛОМ И ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ КАЧЕСТВА

4.1. Теоретическое обоснование выбора лекарственной формы и описание целевого профиля качества лекарственного препарата

На основе литературных данных был сформулирован целевой профиль качества твердой лекарственной формы с ресвератролом, представленный в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Целевой профиль качества таблеток с ресвератролом

Показатель	Значение	Примечание
Фармакологическая группа	Антиоксидант	[159, 177, 144, 179]
Путь введения	Для перорального приема	[137, 144]
Лекарственная форма	Таблетки	[144]
Биодоступность	Низкая (БКС II)	[70, 77, 144]
Дозировка	60 мг	[179]
Стабильность	Изомеризации из транс- в цис-ресвератрол способствуют УФ-излучение, свет и низкие значения pH	[137] В связи с чем рекомендовано хранить в защищенном от света месте
Упаковка	флакон из темного стекла с завинчивающейся крышкой	ОФС.1.1.0035 «Упаковка лекарственных средств»

Выбор пути введения и лекарственная форма были обусловлены удобством применения и стабильностью ресвератрола в таблетках. В связи с низкой растворимостью ресвератрола в воде возникает необходимость приема высоких доз разрабатываемого препарата. Это не является целесообразным, т.к. в литературе нет данных подтверждающих, что при наличии сопутствующих заболеваний ресвератрол в больших дозах оказывает одинаково положительный эффект [111, 151]. К тому же может возникнуть риск возникновения побочных эффектов [110]. В связи с чем твердая ЛФ с ресвератролом и способ её получения

должны обеспечивать попадание максимального количества действующего вещества в системный кровоток.

Выбор вспомогательных веществ напрямую влияет как на промежуточную форму (композицию и смесь для таблетирования), так и на качество конечного продукта и его биодоступность. Оптимальный выбор определяется физико-химическими свойствами действующего вещества, желаемой биофармацевтической характеристикой готовой ЛФ и экономической целесообразностью.

Таким образом, основным фактором, влияющим на выбор состава и технологию разработки твердой ЛФ с ресвератролом, является повышение растворимости полифенола. Только детальное изучение всех факторов позволяет разработать оптимальный состав и подобрать технологический процесс, обеспечивающий получение ЛФ, полностью соответствующей своему целевому назначению.

4.2. Разработка таблеток с ресвератролом

4.2.1. Выбор вспомогательных веществ

Были проведены исследования разработанной композиции (ресвератрол + метил-β-циклодекстрин + 2,5% аскорбиновая кислота) по физико-технологическим показателям согласно ГФ РФ XV изд. Полученные данные представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Физико-технологические характеристики составов

Показатели	Результаты
Масса, г	30,0
Фракционный (гранулометрический состав)	Мелкий порошок
Сыпучесть, г/с	8,0
Угол естественного откоса, градус	32
Насыпная плотность без уплотнения, г/мл	0,61

Продолжение таблицы 4.2

Показатели	Результаты
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл	0,68
Коэффициент Хауснера	1,11
Коэффициент прессуемости, %	10,3

Полученные результаты свидетельствуют о хорошей сыпучести разработанной лекарственной композиции. Этот показатель является ключевым критерием, позволяющим выбрать в качестве основного метода производства таблеток – прямое прессование и сделать акцент на выборе вспомогательных веществ, подходящих для данного метода.

Были разработаны 8 составов, содержащие в качестве основного компонента ресвератрол в композиции с метил-β-циклодекстрином и аскорбиновой кислотой.

Масса одной таблетки 700 мг. Содержание ресвератрола в разработанной лекарственной форме составило 60 мг/табл. Содержание в таблетке 60 мг ресвератрола обусловлено его средним пороговым значением, которое составляет 40-60 мг.

Составы таблеточных масс представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 - Составы таблеточных масс

Наименование вспомогательного вещества	Ингредиенты на 1 таблетку, мг (m=700)							
	№ состава							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Композиция (10%RES+m-β-CD+2,5%AA)	600	600	600	600	600	600	600	600
Лудипресс	93	80	-	-	-	-	-	-
Лактозы моногидрат + кукурузный крахмал	-	-	93	80	-	-	-	-
Крахмал	-	-	-	-	93	80	-	-
Маннитол	-	-	-	-	-	-	93	80
Натрия крахмала гликолят	-	13	-	13	-	13	-	13
Стеариновая кислота	7	7	7	7	7	7	7	7

Данный выбор вспомогательных веществ обусловлен тем, что они подходят для изготовления таблеток методом прямого прессования.

4.2.2. Результаты исследований физико-технологических характеристик таблеточных смесей

В таблице 4.4 представлены результаты исследований физико-технологических характеристик составов №10.1 - 10.8 таблеточных смесей.

Технологические характеристики модельных составов таблеток с ресвератролом представлены в таблице 4.5. Исследования проводились согласно методикам, указанным в ОФС.1.4.1.0015 «Таблетки» ГФ XV РФ. Также были проведены количественные характеристики содержания ресвератрола в полученных таблетках и однородность дозирования методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием [31, 48] (таблица 4.6).

Согласно результатам, представленным в таблице 4.4 все разработанные составы отличаются отличной сыпучестью. Таблетки из разработанных составов пригодны для прямого прессования [10, 35].

Изначально для процесса таблетирования было установлено давление 50 кгс/см². Однако время распада таблеток превышало 15 минут, что не соответствовало стандартам, указанным в соответствующей ОФС. В связи с этим было решено снизить давление прессования вдвое, до 25 кгс/см² [10, 19, 35].

Таблица 4.4 – Физико-технологические характеристики смесей для таблетирования

Показатели	№ состава							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Угол естественного откоса, градус	36±2	32±2	28±2	30±2	36±2	34±2	40±2	35±2
Сыпучесть, г/с	7,1 ±0,11	7,1±0,11	7,1±0,11	7,3±0,12	7,0±0,10	7,2±0,11	7,2±0,11	7,0±0,10
Насыпная плотность, г/мл								
- до уплотнения	0,57 ±0,06	0,60±0,06	0,55±0,06	0,60±0,06	0,55±0,06	0,54±0,05	0,55±0,06	0,55±0,06
- после уплотнения	0,69±0,07	0,70±0,07	0,61±0,06	0,65±0,07	0,67±0,07	0,63±0,06	0,66±0,07	0,64±0,06
Коэффициент Хауснера	1,21	1,17	1,11	1,08	1,22	1,17	1,20	1,16
Коэффициент прессуемости, %	17,39	14,29	9,83	7,69	17,91	14,29	16,67	14,06

Таблица 4.5 – Оценка показателей качества полученных таблеток

Показатели	№ состава							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Описание	Таблетки круглой формы, белого цвета или со слегка желтоватым оттенком. Поверхность гладкая, однородная, с риской. Диаметр 10 мм							
Прочность на истирание, %	95,3±0,43	99,2±0,52	99,9±0,22	98,8±0,25	99,8±0,26	99,9±0,44	99,3±0,32	99,3±0,35
Прочность на раздавливание, Н	39,45 ±0,11	43,1 ±0,09	63,7 ±0,12	48,4 ±0,21	51,4 ±0,12	48,9 ±0,50	45,0 ±0,7	40,0 ±0,22
Распадаемость, мин	7,2 ±0,13	9,17 ±0,09	- ¹	15,41 ±0,15	- ²	10,23 ±0,11	15,35 ±0,17	9,32 ±0,06
Однородность дозирования, %*	99,98	99,97	99,21	99,73	99,82	99,87	99,95	99,69
Примечание: 1 - не распались 13 таблеток из 18; 2- не распались 14 таблеток из 18								

Согласно проведённым исследованиям, все полученные таблетки имели схожие результаты по показателю «Описание» (разработанные таблетки представлены в приложении Б, рисунок Б.1). Результат истираемости таблеток состава №1 (с Лудипрессом) и №4 (с натрия крахмала гликолятом и смесью лактозы моногидрата и кукурузного крахмала) не соответствует требованиям, указанным в ОФС.1.1.1.0015 (истираемость превысила 1%). Остальные 6 составов имеют удовлетворительный результат по данному показателю [35].

Модельные таблетки ресвератрола составов №2-8 прошли испытание «Прочность на раздавливание»: при диаметре таблеток 10 мм значения превысили минимально допустимую прочность 40 Н. Таблетки состава №1 (с Лудипрессом) по данному показателю не соответствовали рекомендациям ГФ РФ XV: их прочность на раздавливание составила 39,45 Н.

Модельные таблетки ресвератрола составов №3 (со смесью лактозы моногидрата и кукурузного крахмала) и №5 (с крахмалом) не прошли испытание «Распадаемость», т.к. не распались 13 и 14 таблеток из 18, соответственно, что не соответствует требованиям ГФ РФ XV (должно распасться не менее 16 таблеток из 18). Таблетки составов №4 (с натрия крахмала гликолятом и смесью лактозы моногидрата и кукурузного крахмала) и №7 (с маннитолом) также не прошли испытание, т.к. время распада превысило 15 минут.

На основании проведенных тестов для дальнейшего изучения на тест «Растворение» отобраны составы таблеток ресвератрола №2 (с Лудипрессом и натрия крахмала гликолятом), №6 (с крахмалом и натрия крахмала гликолятом) и №8 (с маннитолом и натрия крахмала гликолятом). Результат представлен на рисунке 4.1.

Также в таблетках этих трех составов проводилось количественное определение ресвератрола разработанной методикой ВЭЖХ с УФ-детектированием (результат представлен в таблице 4.6, валидация методики количественного определения в приложении Е, хроматограммы представлены в приложении А, рисунок А.1 и А.2).

Таблица 4.6 – Содержание ресвератрола в полученных таблетках

Таблеточная смесь №	Масса таблетки, мг	Содержание ресвератрола, мг/таб (% от массы таблетки)
10.2	700,22	59,83 (8,54)
10.6	699,32	59,95 (8,50)
10.8	699,08	60,12 (8,60)
Примечание: В таблице приведено среднее значение. Количество проб n=10		

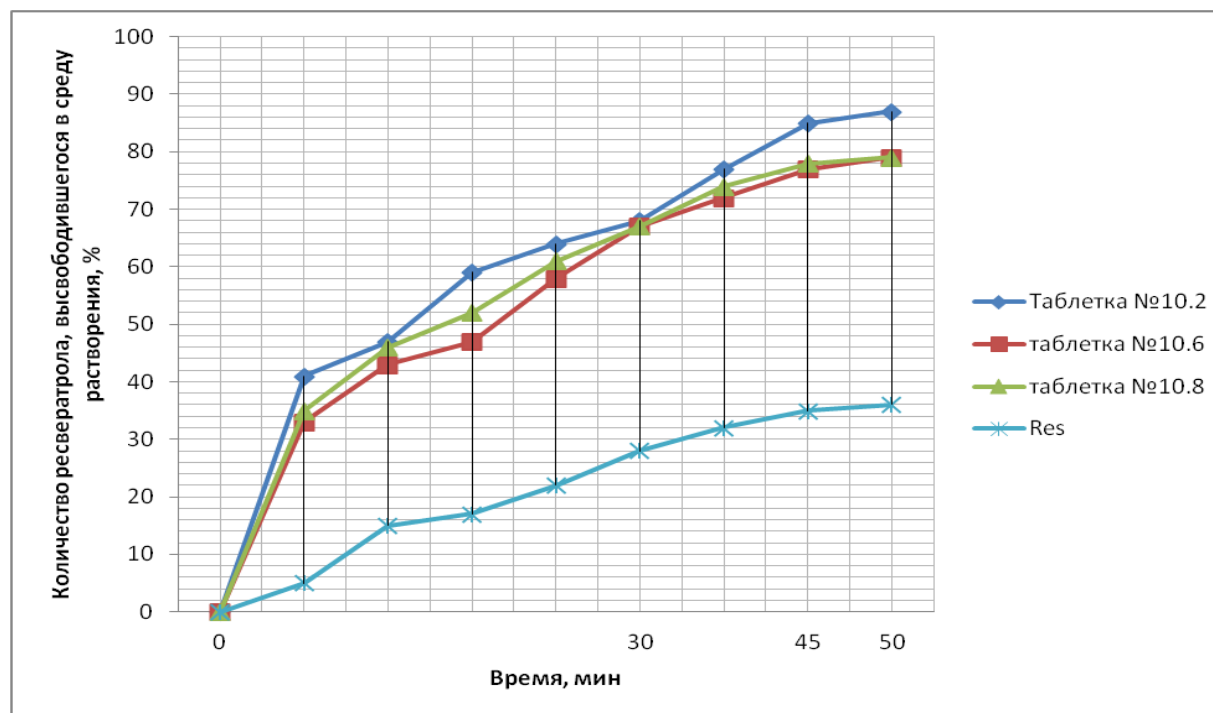


Рисунок 4.1 – количество ресвератрола, высвободившегося в среду растворения за 45 мин, %

Таблетки состава №2, содержащие в качестве вспомогательных веществ Лудипресс и натрия крахмала гликолят, продемонстрировали лучший результат из трёх исследованных составов по результатам теста «Растворение» (85% ресвератрола высвободилось за 45 мин), что соответствует требованиям ГФ XV (более 80%). Из таблеток составов №6 (с крахмалом и натрия крахмала гликолятом) и №8 (с маннитолом и натрия крахмала гликолятом) высвободилось в среду растворения 77% и 78% ресвератрола, соответственно, поэтому данные составы не могут быть рекомендованы к дальнейшим исследованиям.

Таким образом, таблетки состава №2, содержащие в качестве вспомогательных веществ Лудипресс и натрия крахмала гликолят, единственные из разработанных 8 составов прошли все тесты согласно ГФ XV РФ и могут быть рекомендованы к дальнейшим исследованиям *in vivo* [19, 35].

Основными практическими результатами данного этапа работы являются:

- Разработка и валидация методик контроля качества, а также составление спецификации для лекарственного препарата «Таблетки с ресвератролом, 60 мг» (таблица 4.7).

- Экспериментальное обоснование сроков годности на основе исследования стабильности трех производственных серий в ходе ускоренных и долгосрочных испытаний (приложение В, таблицы В.1-В.9).

- Разработка технологической схемы производства, графическое представление которой дано в приложении Д (рисунок Д.1).

Таблица 4.7 – Проект спецификации на ЛС «Ресвератрол в таблетках, 60 мг»

Показатель	Метод	Нормы
Описание	Визуальный ГФ XV	Круглые, гладкие, плоские, с риской, цвет белый. Ø 12 мм.
Подлинность (ресвератрола)	ВЭЖХ с диодно- матричным детектированием	Растворы водного раствора должны иметь характерное для чистой субстанции транс-ресвератрола время удерживания
	УФ-СФМ ОФС.1.2.1.1.0003 «СФМ в УФ и видимой областях»	Спектры водного раствора от 230 до 400 нм должны соответствовать пикам стандарта транс- ресвератрола

Продолжение таблицы 4.7

Показатель	Метод	Нормы
Однородность массы	ОФС.1.4.2.0009 «Однородность массы дозированных лекарственных форм»	700 мг Допустимое отклонение по массе не более 5%
Истираемость	ОФС.1.1.1.0017 «Истираемость таблеток»	Допустимое отклонение по массе не более 1%. Не должно быть сколов, трещин
Распадаемость	ОФС.1.4.2.0013 «Распадаемость таблеток и капсул»	Не допускается присутствие фрагментов таблетки
Растворение	ОФС.1.4.2.0014 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм»	Суммарное количество ресвератрола, перешедшего в среду буферного раствора с pH 1,2 должно составлять через 45 мин – не менее 80%
Остаточные органические растворители (метанол)	Газовая хроматография ОФС.1.1.0008 «Остаточные органические растворители»	Предельное содержание 3000 ppm (30,0 мг/сут)
Однородность дозирования	ОФС.1.4.2.0008 «Однородность дозирования»	ВЭЖХ с диодно- матричным детектированием. 60 мг/табл. Объём выборки 10.
Количественное определение	ВЭЖХ с диодно- матричным детектированием	60 мг/табл. $\pm 10\%$
Упаковка	ОФС.1.1.0035 «Упаковка лекарственных средств»	Первичная упаковка: флаконы из темного стекла с завинчивающейся крышкой Вторичная упаковка: картонная коробка и вкладыш-инструкция по применению

Продолжение таблицы 4.7

Показатель	Метод	Нормы
Маркировка	ОФС.1.1.0036 «Маркировка лекарственных средств»	В соответствии с НД
Хранение	ОФС.1.1.0010 «Хранение лекарственных средств»	В сухом, защищённом от света месте, при температуре $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$
Срок годности	ОФС.1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств»	2 года

4.3. Определение сроков годности и установление совместимости вспомогательных веществ

4.3.1. Определение сроков годности разработанных таблеток

Согласно данным мониторинга стабильности (таблицы В.1-В.9, Приложение В), к концу второго года хранения при стандартных климатических условиях (температуре $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, влажности $60 \pm 5\%$) содержание ресвератрола в таблетках снизилось до 94,38%, что ниже установленного предела в 95%. Это явилось основанием для изучения стабильности в условиях пониженной температуры.

При хранении в течение 39 месяцев при $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ в упаковке (флаконы из темного стекла с винтовой крышкой, N30) снижение содержания действующего вещества не превысило 5% от исходного уровня, оставаясь в диапазоне 95,18–95,19%. Все контролируемые показатели качества на протяжении всего срока наблюдений соответствовали нормативным требованиям.

Таким образом, результаты исследований позволяют установить предполагаемый срок годности таблеток ресвератрола при температуре хранения $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ в течение трех лет.

4.3.2. Установление совместимости вспомогательных веществ с ресвератролом

Руководство ICH Q8 «Фармацевтическая разработка» подчеркивает критическую важность оценки совместимости активных фармацевтических субстанций со вспомогательными веществами на ранних этапах разработки лекарственного препарата. Цель – предотвратить возможные проблемы, связанные с качеством и стабильностью препарата. Испытание на совместимость включает в себя широкий спектр аналитических методов, позволяющих выявить даже незначительные изменения в АФС или ВВ. В ходе испытания оценивается широкий спектр потенциальных взаимодействий. Это могут быть физические взаимодействия (образование агрегатов, кристаллизация, полиморфизм др.); химические взаимодействия (деградация АФС путем гидролиза, окисления, изомеризации). Эти изменения могут существенно повлиять на эффективность и безопасность лекарственного препарата.

Результаты испытаний на совместимость позволяют:

1. Отсеять несовместимые с АФС ВВ: выявить вещества, которые вызывают значительные изменения в АФС или формируют нежелательные продукты реакции. Это позволяет сэкономить время и ресурсы на ранних этапах разработки.
2. Оптимизировать состав ЛП: выбрать оптимальную комбинацию АФС и ВВ, обеспечивающую стабильность и эффективность препарата;
3. Определить условия хранения: установить оптимальные параметры хранения (температура, влажность), при которых препарат сохраняет свои свойства в течение заданного срока годности;
4. Установить предварительный срок годности: на основе полученных данных о стабильности, можно оценить срок годности ЛП и составить спецификации на контроль качества;
5. Снизить риски и затраты: раннее выявление несовместимостей предотвращает дорогостоящие ошибки на более поздних стадиях разработки, а также позволяет избежать потенциальных проблем с качеством и безопасностью готового препарата.

В соответствии с руководством ICH Q8, изучение совместимости АФС с ВВ представляет собой важный этап разработки лекарственной формы, направленный на исследование качества, безопасности и эффективности. Проведение таких исследований в регламентированных условиях позволяет идентифицировать потенциальные взаимодействия между компонентами на ранних стадиях, что способствует оптимизации состава и снижению рисков на последующих этапах доклинических и клинических исследований.

Для проведения скрининга совместимости были приготовлены бинарные смеси ресвератрола с каждым из исследуемых ВВ. Соотношения компонентов в смесях (Таблица 4.8) были выбраны как более жесткие по сравнению с планируемым составом готовой лекарственной формы, что позволяет моделировать стресс-условия и выявлять даже незначительные признаки несовместимости. Приготовленные образцы помещали в герметично закупоренные стеклянные флаконы и выдерживали в течение 6 месяцев в климатической камере при стандартных условиях (температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$, влажности $60 \pm 5\%$).

По истечении экспериментального периода стабильность ресвератрола в каждой из смесей оценивали с помощью ВЭЖХ-метода, описанного в разделе 2.3.5. Полученные количественные данные совместимости АФС с ВВ после хранения представлены в Таблице 4.8.

Таблица 4.8 - Результаты совместимости вспомогательных веществ с ресвератролом (ускоренные исследования: 6 месяцев при температуре $25 (\pm 2)^\circ\text{C}$ и относительной влажности $60 (\pm 5)\%$)

№ п/п	Смесь компонентов	Соотношение компонентов	Показатели			
			Внешний вид	Влажность, %	Количественное содержание RES	
					Исх.	6 мес.
1.	RES+метил-β- ЦД	1:15	порошок почти белого цвета	$7,3 \pm 0,124$	97,78%	93,15%
2.	RES+AA	5:3		$7,3 \pm 0,145$	98,55%	93,33%
3.	RES + Лудипресс	3:5		$7,5 \pm 0,143$	100,21%	95,03%

Продолжение таблицы 4.8

№ п/п	Смесь компонентов	Соотношение компонентов	Показатели			
			Внешний вид	Влажность, %	Количественное содержание RES	
					Исх.	6 мес.
4.	RES + натрия крахмала гликолят	1:3	порошок почти белого цвета	7,6 ± 0,198	100,32%	95,45%
5.	RES + стеариновая кислота	1:2		7,7 ± 0,201	99,12%	94,59%

Наблюдения за указанными смесями подтвердили совместимость ресвератрола с выбранными вспомогательными веществами, взятыми в рекомендуемых концентрациях. Ни в одной из исследуемых смесей не наблюдается изменение физическо-химических характеристик, которые могут отрицательно сказаться на качестве и/или эффективности разработанного лекарственного препарата.

Основываясь на результатах исследования совместимости смесей действующего вещества со вспомогательными веществами, можно сделать вывод, что все вспомогательные вещества данного препарата совместимы с ресвератролом.

4.4. Выводы к главе 4

В результате проведённых исследований:

1. На основе литературных данных составлен целевой профиль качества твердой ЛФ с ресвератролом. Определены показатели, на основе которых был сделан выбор пути введения, лекарственной формы, дозировки, упаковки и стабильности потенциального лекарственного препарата. Так как одним из важнейших показателей качества ресвератрола является его низкая

растворимость, то стратегией для разработки препарата является повышение растворимости;

2. Изучены физико-химические и технологические свойства разработанной композиции, содержащей ресвератрол, метил-бета-циклодекстрин и аскорбиновой кислоту, а также массы для таблетирования, на основании которых был сделан вывод о возможности разработки таблетки методом прямого прессования;

3. Подобраны параметры для разработки таблеток с ресвератролом, отвечающих показателям качества ГФ РФ XV изд.: описание, истираемость, прочность, распадаемость, однородность массы, однородность дозирования, растворение. Так как из 8 разработанных составов только один состав №2, содержащий в качестве вспомогательных веществ Лудипресс и натрия крахмала гликолят, продемонстрировал результат, отвечающий всем требованиям показателей качества согласно ОФС «Таблетки», то он был в дальнейшем исследован на стабильность с установлением срока годности и условий хранения разработанной ЛФ с ресвератролом;

4. Установлен предварительный срок годности таблеток с ресвератролом – 2 года на основании методов ускоренных и долгосрочных исследований во флаконах из темного стекла с завинчивающейся крышкой. Условия хранения – в холодильнике при $5 (\pm 3)^{\circ}\text{C}$ и влажности $60 (\pm 5)\%$;

5. Исследована совместимость ресвератрола со вспомогательными веществами, вследствие которой не выявлено физико-химической реакции ВВ на стабильность или качество RSV в разрабатываемой ЛФ;

6. По результатам проведенных исследований были разработаны: лабораторный регламент, НД на качество разработанных таблеток с ресвератролом (приложение Ж), технологическая схема (приложение Д) и спецификация на «Таблетки с ресвератролом, 60 мг» (таблица 4.7). Разработана и валидирована методика количественного определения ресвератрола (отчет по валидации представлен в приложении Е).

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Анализ литературы показал актуальность, перспективность и возможность разработки твердой лекарственной формы с ресвератролом, обладающим улучшенной растворимостью, при помощи метода солюбилизации;
2. Разработаны самодиспергирующиеся композиции ресвератрола с солюбилизаторами – циклодекстринами, поллоксамерами и полисорбатами. Композиции были получены путем растворения солюбилизатора и ресвератрола в общем растворителе с дальнейшей его отгонкой. Изучены спектрофотометрические, физико-химические свойства разработанных композиций и их стабильность. Теоретически и экспериментально обоснован выбор вспомогательных веществ, улучшающих стабильность композиций. На основе проведенных исследований выбрана самодиспергирующаяся композиция, содержащая 10% ресвератрола (от массы композиции), 2,5% аскорбиновой кислоты (стабилизатор) и метил-бета-циклодекстрин;
3. На основании проведенных физико-технологических свойств выбранной композиции выявлена возможность получения таблеток методом прямого прессования. Теоретически и экспериментально обоснован выбор вспомогательных веществ для таблеток, получаемых прямым прессованием;
4. Разработана оптимальная технология получения таблеток с ресвератролом в составе композиции методом прямого прессования, а также разработана и валидирована методика количественного определения ресвератрола в таблетках методом ВЭЖХ с УФ-детектированием;
5. Разработаны методики анализа твердой лекарственной формы с ресвератролом в составе композиции. Проведена оценка качества разработанных таблеток согласно требованиям ГФ XV по показателям: описание, истираемость, прочность, распадаемость, однородность массы, однородность дозирования, тест «Растворение». Таблетки, содержащие в качестве вспомогательных веществ Лудипресс и натрия крахмала гликолят, продемонстрировали лучший результат из всех исследованных составов. По результатам теста «Растворение» 85%

ресвератрола высвободилось за 45 мин, что соответствует требованиям ГФ XV (более 80%);

6. Исследована стабильность разработанных таблеток в условиях «ускоренного» и естественного хранения. На основе этих данных установлен срок годности 2 года в условиях пониженной температуры $5 (\pm 3) ^\circ\text{C}$ и влажности 60 (± 5) % в оригинальной упаковке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе экспериментальных исследований проведена фармацевтическая разработка ресвератрола в таблетках с улучшенной растворимостью: за счет введения в состав солюбилизатора метил-бета-циклодекстрина растворимость ресвератрола увеличилась и высвобождение ресвератрола из таблеток согласно тесту растворение составляет 85%.

По результатам проведенных исследований выбран оптимальный состав и технология таблеток, содержащих ресвератрол.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты, представленные в работе, являются базой для дальнейшего масштабирования технологии и оптимизации разработанных таблеток с ресвератролом с целью проведения исследований *in vivo* и дальнейшим его внедрением в промышленное производство, а также включения в состав комплексной терапии заболеваний, связанных с окислением свободных радикалов.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Проведение комплекса доклинических и клинических исследований с целью дальнейшей государственной регистрации лекарственного препарата в Министерстве Здравоохранения Российской Федерации.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

СОКРАЩЕНИЯ

AMPK	5' adenosine monophosphate-activated protein kinase (5' аденозинмонофосфат-активируемая протеинкиназа)
CA	- citric acid (лимонная кислота)
CD, ЦД	- cyclodextrins (циклодекстрины)
BP	- British Pharmacopoeia (Фармакопея Великобритании)
ISO	- International Organization for Standardization (Международная организация по стандартизации)
eNOS	- Endothelial NOS, nitric oxide synthase 3 (Эндотелиальная синтаза оксида азота)
iNOS	- индуцибельная форма NO-синтазы
NF-κB	- белковый комплекс, фактор транскрипции, который контролирует транскрипцию ДНК, продукцию цитокинов, апоптоз и клеточный цикл
Notch	- сигнальный путь, участвующий в эмбриогенезе и латеральном ингибировании
Nrf2	- фактор 2, связанный с эритроидом-2
RSV	- resveratrol (ресвератрол)
SIRT	- sirtuins (белки-сиртуины)
Ph.Eur.	- European Pharmacopoeia (Европейская Фармакопея)
TGF/β	- сигнальный путь, участвующий в регуляции экспрессии ЦОГ-2
WNT	- сигнальный путь, участвующий в эмбриогенезе, дифференцировке клеток и развитии злокачественных опухолей
USP	- United States Pharmacopoeia (Фармакопея США)
ACT	- аспаратаминтрансфераза
АГ	- артериальная гипертензия
АФК	- активные формы кислорода
БАВ	- биологически активное вещество
БКС	- биофармацевтическая классификационная система

ВЭЖХ	- высокоэффективная жидкостная хроматография
ГЛБ	- гидрофильно-липофильный баланс
ГЛФ	- готовая лекарственная форма
ГМК	- гладкомышечные клетки
ГФ	- государственная фармакопея Российской Федерации
ЖКТ	- желудочно-кишечный тракт
ИБС	- ишемическая болезнь сердца
ЛП	- лекарственный препарат
ЛПВП	- липопротеиды высокой плотности
ЛС	- лекарственное средство
ЛФ	- лекарственная форма
МКЦ	- микрокристаллическая целлюлоза
НПВС	- нестероидное противовоспалительное средство
ОФС	- общая фармакопейная статья
ПАВ	- поверхностно-активное вещество
ПОЛ	- перекисное окисление липидов
РКИ	- рандомизированные клинические исследования
СД	- сахарный диабет
СРО	- свободнорадикальное окисление
СФМ	- спектрофотометрия
УФ	- ультрафиолетовый (спектр, спектрофотометрия)
ФГА	- фитогемагглютинин
α -ФНО	- фактор некроза опухоли
ФС	- фармацевтическая субстанция
ХОБЛ	- хроническая обструктивная болезнь легких
ЦОГ	- циклооксигеназа. ЦОГ–1 – фермент, участвующий в синтезе простагландинов из арахидоновой кислоты, ЦОГ–2 – индуцибельный фермент, который активизируется при стрессе.
ЭДТА	- этилендиаминтетрауксусная кислота

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

C_c	- молярная концентрация солюбилизатора
$C_c -$	- концентрация мицеллярной фазы
$[S]_{\text{ККМ}}$	
D_L	- оптическая плотность раствора свободного ресвератрола
D_{L_c}	- оптическая плотность раствора свободного ресвератрола в составе солюбилизатора
ϵ_L	- молярный коэффициент поглощения свободного ресвератрола
ϵ_{Lc}	- молярный коэффициент поглощения свободного ресвератрола в составе солюбилизатора
K_k	- константа комплексообразования
K_m	- коэффициент распределения ресвератрола между мицеллярной и водной фазами
K_{mc}	- молярный коэффициент солюбилизации
l	- длина оптического пути в кювете спектрофотометра
$[L]$	- концентрация несольюбилизированной части БАВ
$[L]_c$	- молярная концентрация БАВ в солюбилизированной форме
LS	- концентрация комплексов включения, где S – молекула солюбилизатора
μ_c	- молярная масса солюбилизатора
μ_L	- молярная масса БАВ
$[S]_{\text{ККМ}}$	- критическая концентрация мицеллообразования солюбилизатора
t_R	- время удерживания
λ	- длина волны

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антиоксиданты: классификация, фармакотерапевтические свойства, использование в практической медицине / С.А. Шахмарданова, О.Н. Гулевская, В.В. Селецкая, А.В. Зеленская, Я.А. Хананашвили, Д.А. Нефедов, П.А. Галенко-Ярошевский // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2016. – №3. – С. 5-10.
2. Беляев, Н.М. Актуальные аспекты и современные тенденции использование натуральных антиоксидантов / Н.М. Беляев // Перспективы развития агропромышленного комплекса: отечественный и зарубежный опыт: материалы международной научной конференции (30 ноября 2017 г.). – Кемерово: ООО «Западно-Сибирский научный центр», 2017. - С. 51-52.
3. Витаминные и антиоксидантные свойства токоферолов / В.М. Коденцова, В.В. Бессонов, В.А. Саркисян, А.А. Кочеткова // Вопросы диетологии. – 2018. – № 3 (8) – С. 23-32.
4. Гаврилов, А.С. Фармацевтическая технология. Изготовление лекарственных препаратов: учебное пособие / А.С. Гаврилов – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 624 с.
5. Головкин, В.А. Избранные лекции по биофармации и современным достижениям фармацевтической технологии: Учебное пособие / В.А. Головкин, В.П. Соловьева, В.В. Гладышев. – Запорожье: Издательство ЗГМУ, 2005. – 136 с.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. М: 2023. Федеральная электронная медицинская библиотека. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения 26.09.2024)
7. Даниленко, Л.М. Применение рекомбинантного эритропоэтина и ресвератрола для фармакологической коррекции ишемических повреждений миокарда / Л.М. Даниленко // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – С.1019.
8. Демина, Н.Б. Биофармацевтическая классификационная система как

инструмент разработки дизайна и технологии лекарственной формы. / Н.Б. Дёмина // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2017. – № 2. – С. 56-60

9. Зайцев, В.Г. Связь между химическим строением и мишенью действия как основа классификации антиоксидантов прямого действия / В.Г. Зайцев, О.В. Островский, В.И. Закревский // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – Т.66 – № 4. – С.66-70.

10. Исследование технологических свойств таблеточных масс и таблеток ресвератрола / М.С. Сокуренок, С.П. Кречетов, С.А. Олифер, И.И. Краснюк, В.В. Кугач, Н.Л. Соловьева // Вестник фармации. – 2019. - № 2 (84). – с. 74-80

11. Изучение влияния ресвератрола и его композиций с солубилизаторами на перекисное окисление липидов (пол) у крыс линии Wistar и мышей линии C57black/6j / М.С. Сокуренок, С.А. Апрятин, М.А. Макаренко [и др.] // Сборник Материалов II Всероссийской научно-практической конференции «Питание и здоровье» (5-7 июня 2019 г.) - Москва, ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 2019. – С. 60-62

12. Карпенко, Ф.В. Битумные эмульсии. Основы физико-химической технологии производства и применения / Ф.В. Карпенко, А.А. Гуреев. – Москва: ЦНИИТЭ нефтехим, 1998. – 68 с.

13. Клиническая фармакология: избранные лекции / С.В. Оковитый, В.В. Гайворонский, А.Н. Куликов, С.Н. Шуленин – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 541 с. ISBN: 978-5-9704-1136-0

14. Колесник, И.М. Экспериментальное обоснование возможности применения ресвератрола для фармакологического прекондиционирования в хирургии / И.М. Колесник, В.А. Лазаренко, М.В. Покровский // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2015. – № 3. – С. 75-78.

15. Крушева, А.В., Антиоксиданты и их применение в медицине / А.В. Крушева, Е.И. Терах // Научное сообщество студентов XXI столетия. Естественные науки: сборник статей по материалам XIX международной Студенческой Научно-практической Конференции – Новосибирск: СибАК, 2014.

– № 5 (19). – С. 23-26.

16. Логинова, А.Д. Действие ресвератрола на процессы, протекающие в митохондриях в норме и при патологиях / А.Д. Логинова, Т.А. Лысова // Сборник статей VIII международной научно-практической конференции EURASIA SCIENCE. – 2017. – С. 13-16.

17. Логинова, В.М. Влияние полоксамера 407 на фракционный и субфракционный состав липопротеинов сыворотки крови мышей / В.М. Логинова // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – № 5. - С. 70-75.

18. Малая медицинская энциклопедия в 6-ти т. РАМН. Т.6. Токсины–Ящур. / Гл. ред. В.И. Покровский. – Москва: Медицина, 1996. – 544 с. ISBN 5-85270-040-1.

19. Масленникова, М.С. Разработка таблеток с ресвератролом и метил-бета-циклодекстрином. / М.С. Масленникова, Н.Л. Соловьева, А.И. Бардаков // Сборник Материалов III Международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (18-20 сентября 2024 г.) – Томск, СибГМУ - 2024. – С. 48-50

20. Миняева, О.А. Влияние добавок неионогенных ПАВ в качестве эмульгаторов на температуру плавления основы мягких лекарственных форм / О.А. Миняева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1. – С. 1978.

21. Моисеев, Д.В. От растения до лекарственного препарата / Д.В. Моисеев, О.А. Веремчук, А.М. Моисеева // Материалы международной научной конференции. – Москва. – 2020. – С. 255-259

22. Мурашкина, И. А. Вспомогательные вещества в фармацевтической технологии: учебное пособие / И.А. Мурашкина, В.В. Гордеева. – Иркутск: ИГМУ, 2018.- 64 с. УДК 615.014:661.12(075.8)

23. Немцова, Е.Р. Принципы и методологические аспекты разработки и изучения антиоксидантных средств для онкологической клиники: специальность 14.00.14 «Онкология»: автореферат диссертации на соискание ученой степени Доктора биологических наук / Немцова Елена Романовна; ФГУ «Московский

научно-исследовательский онкологический институт имени П.Л.Герцена Росздрава». – Москва, 2006. – 48 с.

24. Обоснование оптимального состава композиций ресвератрола с солюбилизаторами / С.П. Кречетов, М.С. Масленникова, Н.Л. Соловьёва, И.И. Краснюк // Российский биотерапевтический журнал. – 2021. - №3 – С. 57-65

25. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития от 13.07.2005 № 01И-343/05 «О контроле качества вспомогательных веществ». URL: <https://legalacts.ru/doc/pismo-roszdravnadzora-ot-13072005-n-01i-34305-o/> (дата обращения: 22.04.2024)

26. Плетнев, М.Ю. Поверхностно-активные вещества и композиции. Справочник. / Под ред. Плетнева М.Ю. – Москва: Фирма Кламель, 2002. – 768 с. ISBN 5-901100-13-1

27. Полифенольные соединения класса стильбеноидов: классификация, представители, содержание в растительном сырье, особенности структуры, использование в пищевой промышленности и фармации / М.С. Сокуренок, Н.Л. Соловьёва, В.В. Бессонов, В.К. Мазо // Вопросы питания. – 2019. - №1 (88). – с. 17-25

28. Растительные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов антидиабетического действия. / В.В. Бессонов, М.С. Сокуренок, Е.А. Смирнова; под редакцией В.А. Тутельяна, Т.Л. Киселёвой, А.А. Кочетковой - Москва: Библио-Глобус. – 2016. – С. 421. ISBN 978-5-9909097-5-5

29. Получение и исследование свойств композиций ресвератрола с солюбилизаторами / С.П. Кречетов, М.С. Масленникова, А.Ю. Куksин [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2023. - №2. – С. 65-73

30. Приказ Минздравсоцразвития России № 199н от 04.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». URL: <https://docs.cntd.ru/document/420350679?marker=6520IM> (дата обращения 23.10.2017)

31. Применение различных методов количественного определения ресвератрола в субстанции / А.Н. Кисилёва, К.А. Стрелычева, Е.Г. Коган, М.Э.

- Шаталова, О.В. Васильева, О.В. Кордина, О.Ю. Гершунина // Смоленский медицинский альманах. – 2017. – № 1. – С. 224.
32. Природные циклические олигосахариды – циклодекстрины в системах доставки лекарств / П.Ю. Федорова, Р.К. Андресон, Е.К. Алехин, Н.Г. Усанов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – № 4 (6). – С. 125-131.
33. Разработка самодиспергирующейся смеси ресвератрола. / М.С.Сокуренко, Н.Л. Соловьёва, С.П.Кречетов, С.А. Бруновленский-Богоявленский ; под редакцией А.Г. Чучалина // Сборник материалов XXIV Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (10-13 апреля 2017 г.) - Москва, Видокс. -2017. – С. 107
34. Разработка состава и технологии капсул с ресвератролом / М.С. Сокуренко, С.П. Кречетов С.П., С.А. Олифер, И.И. Краснюк, Н.Л. Соловьёва, М.А. Макаренко, Н.Б. Демина // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2019. - №8 (4). – С. 16-19
35. Разработка состава и технологии таблеток с ресвератролом / М.С. Масленникова, Ж.М. Козлова, И.И. Краснюк, Н.Л. Соловьёва // Естественные и технические науки. – 2024. - №9(196). – с. 74-80
36. Реулец, Л.М. Ресвератрол как антиоксидант / Л.М. Реулец, С.В. Кахановская. // Вестник приднестровского университета. Серия: медико-биологические и химические науки. – 2013. – № 2 (44). – С. 121-123.
37. Свободнорадикальное окисление липидов и белков – универсальный процесс жизнедеятельности организма / М.А. Луцкий, Т.В. Куксова, М.А. Смелянец, Ю.П. Лушникова // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 12 (1). – С. 24-28.
38. Сейфулла, Р.Д. Антиоксиданты / Р.Д. Сейфулла, Е.А. Рожкова, Е.К. Ким // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72 – № 3. – С. 60-63.
39. Собакарь, М.С. Антиоксидантная терапия и метаболические подходы к лечению заболеваний сердечно–сосудистой системы / М.С. Собакарь, Е.В. Ших // Биомедицина. – 2010. – № 3. – С. 13-16.

40. Сокурено, М.С. Полифенольные соединения в спортивном питании: биохимия и направленность действия / М.С. Сокурено, В.В. Бессонов, Н.Л. Соловьёва // Спортивное питание и спортивная медицина: сборник материалов Научно-практической конференции с международным участием (01-02 июня 2015 г.). - Москва. - 2015. – с. 69-70
41. Сокурено, М.С. Биологически активные вещества: факторы, влияющие на их поступление в организм и биодоступность / М.С. Сокурено, Н.Л. Соловьёва // Материалы международной конференции: Школа молодых ученых «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний». - Москва. - 2016. – с. 235-240
42. Сокурено, М.С., Источники полифенольных антиоксидантов растительного происхождения. Виноград культурный (*Vitis vinifera*) / М.С. Сокурено, Н.Л. Соловьёва // Сборник материалов XXIII Российского Национального конгресса «Человек и лекарство». - Москва: Видокс, 2015. – с. 262
43. Сокурено, М.С. Действие ресвератрола при лечении сахарного диабета 2 типа. / М.С.Сокурено, Соловьёва Н.Л. // Материалы XVI Всероссийского конгресса нутрициологов и диетологов с международным участием "Фундаментальные и прикладные аспекты нутрициологии и диетологии (2-4 июня 2016 г.). – Москва: ГЭОТАР-Медиа. - 2016. – с. 123-124
44. Сокурено, М.С. Методы повышения стабильности и биодоступности ресвератрола / Сокурено, М.С., Соловьёва Н.Л., Кречетов С.П. // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы современной фармацевтической технологии» (29 апреля 2016 г.) – Пятигорск: Рекламно-информационное агенство на Кавминводах. - 2016. – с. 145-149
45. Сокурено, М.С. Технологии повышения стабильности полифенольных соединений в лекарственных препаратах / М.С. Сокурено, Н.Л. Соловьёва // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. - №4 (17) – с. 82-91
46. Соловьёва, Н.Л. Полифенольные соединения: биохимия и способы

- улучшения биодоступности в лекарственном препарате / Н.Л. Соловьёва, В.В. Бессонов, М.С. Сокурено // Материалы Региональной научно-практической конференции «Лечебное питание: актуальные вопросы». – Казань (30-31 октября 2015 г.) - 2015. – С. 74-75
47. Трегубова, И.А. Антиоксиданты: современное состояние и перспективы / И.А. Трегубова, В.А. Косолапов, А.А. Спасов // Успехи физиологических наук. – 2012. – Т. 43. – № 1. – С. 75–82, 87.
48. Тутельян, В.А. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи / под ред. В. А. Тутельяна и К. И. Эллера – Учреждение Российской акад. Мед. Наук Науч.-исслед. Ин-т питания РАМН; М.: Династия, 2010. – 180 с.
49. Фархутдинова, Л.М. Окислительный стресс. История вопроса / Л.М. Фархутдинова // Вестник академии наук РБ. – 2015. – Т. 20. – № 1. – С. 43-45
50. Фитоалексин ресвератрол: методы определения, механизмы действия, перспективы клинического применения / А.М. Моисеева, Н.В. Железняк, А.Г. Генералова, Д.В. Моисеев // Вестник фармации. – 2012. – N 1(55). – С. 63-69.
51. Фролов, Ю.Г. Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы. / Ю.Г. Фролов – М.: Химия, 1988. – 464 с.
52. Чекалина, Н.И. Ресвератрол снижает воспалительную активацию эндотелия у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом / Н.И. Чекалина // Клиническая медицина Казахстана. – 2016. – № 3 (41). – С. 23-26.
53. A Review of Poloxamer 407 Pharmaceutical and Pharmacological Characteristics / G. Dumortier, J. L. Grossiord, F. Agnely [et al.] // Pharmaceutical Research. - 2006. – № 23. – P. 2709–2728.
54. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil / M. Baldioli, M. Servili, G. Perretti [et al.] // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 1996. – № 73. – P. 1589–1593.
55. Antioxidant effects of resveratrol and other stilbene derivatives on oxidative stress and NO bioavailability: Potential benefits to cardiovascular diseases / M. Frombaum, S. Le Clanche, D. Bonnefont-Rousselot [et al.] // Biochimie. – 2012. – Vol.

94. – № 2. – P. 269–276.
56. Antioxidant synergy of α -tocopherol and phospholipids / N.M. Bandarra, R.M. Campos, I. Batistaa [et al.] // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 1999. - №76. - P. 905–913.
57. Araújo, J.R. Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines / J.R. Araújo // Nutrition Research. – 2011. – Vol. 31. – № 2. – P. 77–87.
58. Attwood, D. Surfactant Systems: Their chemistry, pharmacy and biology / D. Attwood, A.T. Florence // Springer Netherlands, 1983. – P. 794. - ISBN 978-94-009-5777-0
59. Atwood, J.L. Cyclodextrins // Comprehensive Supramolecular Chemistry. J.L. Atwood, J –M. Lehn. - New York: Pergamon. 1st Ed, - 1996. – 669 p. – ISBN 0080427235
60. Ayorinde, F.O. Analysis of some commercial polysorbate formulations using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry / F.O. Ayorinde // Rapid Communications in Mass Spectrometry. – 2000. – № 14 (22). – P. 2116–2124.
61. Baur, J.A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence / J.A. Baur, D.A. Sinclair // Nature Reviews Drug Discovery– 2006. – № 5 (6). – P. 493–506.
62. Bender, M.L. Cyclodextrin Chemistry / M.L. Bender, M. Komiyama. - Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1978. – 96 p. – ISBN 978-3-642-66844-9
63. Bhatt, J.K. Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus / J.K. Bhatt, S. Thomas, M.J. Nanjan // Nutrition Research. – 2012. – № 32 (7). – P. 537-541.
64. Bioavailability and bioequivalence: an FDA regulatory overview / M.L. Chen, V. Shah, R. Patnaik [et al.] // Pharmaceutical Research. – 2001. – № 18 (12). – P. 1645-1650.
65. Cadenas, S. Resveratrol, melatonin, vitamin E, and PBN protect against renal oxidative DNA damage induced by the kidney carcinogen KbrO₃ / S. Cadenas // Free Radical Biology and Medicine. – 1999. – № 26. – P. 1531–1537.
66. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from

grapes / M. Jang, L. Cai, G.O. Udeani [et al.] // *Science*. – 1997. – № 275. – P. 218–220.

67. Carter, L.G. Resveratrol and cancer: focus on in vivo evidence / L.G. Carter, J.A. D’Orazio, K.J. Pearson // *Endocrine-Related Cancer*. – 2014. – № 21(3). – P. 209-225.

68. Censi, R. Polymorph Impact on the Bioavailability and Stability of Poorly Soluble Drugs / R. Censi, P. Di Martino // *Molecules*. – 2015. - № 20 (10). – P. 18759-18776.

69. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems / J.-M. Lü, P.H. Lin, Q.Yao [et al.] // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2010. – № 14 (4). – P. 840-860.

70. Chemistry, stability and bioavailability of resveratrol / A. Francioso, P. Mastromarino, A. Masci [et al.] // *Medicinal Chemistry*. – 2014. – № 10 (3). – P. 237-245.

71. Chemosensitization of tumors by resveratrol / S.C. Gupta, R. Kannappan, S. Reuter [et al.] // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2011. – № 1215. – P. 150–160.

72. Circulating biomarkers of oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review / E. Zinellu, A. Zinellu, A.G. Fois [et al.] // *Respiratory Research*. – 2016. – Vol. 17. – P. 150

73. Commoner, B. Free radicals in biological materials / B. Commoner, J. Townsend, G.E. Pake // *Nature*. – 1954. – № 174. – P. 689–691.

74. Cramer, Fr. Einschlußverbindungen // Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag, 1954. – 115 p.

75. Crini, G. Review: The History of Cyclodextrins / G. Crini // *Chemical Reviews*. – 2014. – Vol. 114. - № 21. – p.10940–10975

76. Cyclodextrins and ternary complexes: technology to improve solubility of poorly soluble drugs / J.C.D. Miranda, T.E.A. Martins, F. Veiga [et al.]. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2011. – Vol. 47 – №. 4. – P. 665-668.

77. Davidov-Pardo, G. Resveratrol encapsulation: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues / G. Davidov-Pardo, D. Julian

McClements // Trends in Food Science & Technology. – 2014. – Vol. 38. – №2. – P. 88-103

78. Dietary resveratrol prevents the development of food allergy in mice / Y. Okada, K. Oh-oka, Y. Nakamura [et al.] // PloS One. – 2012. – №7(9)

79. Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation / W. Wang, K. Tang, H.-R. Yang [et al.] // Plant Physiology and Biochemistry. – 2010. – № 48 (2-3). – P. 142-152.

80. Drug specific, tuning of an ionic liquid's hydrophilic–lipophilic balance to improve water solubility of poorly soluble active pharmaceutical ingredients / P.D. McCrary, P. A. Beasley, G. Gurau [et al.] // New Journal of Chemistry. – 2013. – №37. – P. 2196–2202.

81. Du, J. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer / J. Du, J.J. Cullen, G.R. Buettner // Biochimica et Biophysica Acta. – 2012. - № 1826(2). – P. 443-457.

82. Effect of resveratrol on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials / Y. Liu, W. Ma, P. Zhang [et al.] // Clinical Nutrition. – 2015 – № 34 (1). – P. 27–34.

83. Effect of Surfactant-Bile Interactions on the Solubility of Hydrophobic Drugs in Biorelevant Dissolution Media / Z. Vinarov, V. Katev, N. Burdzhiev [et al.] // Molecular Pharmaceutics. – 2018. – № 15 (12). – P. 5741-5753

84. Effects of resveratrol in inflammatory arthritis / N. Elmali, O. Baysal, A. Harma [et al.] // Inflammation. – 2007. – № 30. – P. 1-6.

85. Effects of resveratrol on lymphocyte proliferation and cytokine release / P. Boscolo, A. del Signore, E. Sabbioni [et al.] // Annals of Clinical & Laboratory Science – 2003. – № 33. – P. 226-231.

86. Evaluation Report of Food Additives Polysorbates (Polysorbates 20, 60, 65 and 80). [Electronic resource]. – Food Safety Comission, 2007. – Режим доступа: https://www.fsc.go.jp/english/evaluationreports/foodadditive/polysorbate_report.pdf (дата обращения 26.03.2024)

87. European Pharmacopoeia 7.0. Poloxamers – P. 2751-2752 URL <http://www.fptl.ru/biblioteka/farmacop/EP-7.0-2.pdf> (дата обращения: 01.03.2019)
88. Farooqi, A.A. Regulation of Cell Signaling Pathways and miRNAs by Resveratrol in Different Cancers / A.A. Farooqi, S. Khalid, A. Ahmad // International Journal of Molecular Sciences. – 2018. – № 19(3). - 652
89. Freudenberg, K. Über Schardinger Dextrine aus Starke / K. Freudenberg, R. Jacobi // Liebigs Annalen der Chemie – 1935. – № 518. - P. 102-108.
90. Frömring, K.H. Cyclodextrins in pharmacy / K.H. Frömring, J. Szejtli. - Springer Science & Business Media. - Dordrecht, 1994. – p. 225. – ISBN 978-90-481-4242-2
91. Ghorab, M.K. Enhancement of ibuprofen / M.K. Ghorab // Pharmaceutical Development and Technology. – 2008. – № 6. – P. 305-314.
92. Gomberg, M. An instance of trivalent carbon: triphenylmethyl / M. Gomberg. // Journal of the American Chemical Society. – 1900. – № 22. – P. 757–771.
93. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8 the ed. / Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Re-search (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. // Washington: The National Academies Press, 2011. – 246 p. - ISBN 978-0-309-15400-0
94. Harman, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry / D. Harman // Journal of Gerontology. – 1956. – № 11. – P. 298–300.
95. Hattori, R. Pharmacological preconditioning with resveratrol: Role of nitric oxide / R. Hattori // American Journal of Physiology–Heart and Circulatory Physiology. – 2002. – № 282. – P. 1988 –1995.
96. Hayaishi, O. Molecular Mechanisms Of Oxygen Activation / O.Hayaishi // Academic Press, 1974. – P. 696 – ISBN 978-0-12-333640-8
97. Huang, X. Resveratrol and its analogues: promising antitumor / X. Huang // Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry – 2011. – № 11 (5). – P. 479– 490.
98. Imlay, J.A. The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium / J.A. Imlay // Nature Reviews

Microbiology. – 2013. – № 11 (7). – P. 443-454.

99. Immunomodulatory activity of resveratrol: suppression of lymphocyte proliferation, development of cell-mediated cytotoxicity, and cytokine production / X. Gao, Y.X. Xu, N. Janakiraman [et al.] // *Biochemical Pharmacology*. – 2001. – № 62 (9). – P. 1299-1308.

100. Implementing the Biopharmaceutics Classification System in Drug Development: Reconciling Similarities, Differences, and Shared Challenges in the EMA and US-FDA-Recommended Approaches / J.M. Cardot, A. Garcia Arieta, P. Paixao [et al.] // *American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*. – 2016. – № 18 (4). – P. 1039-1046.

101. Inhibition of cancer antioxidant defense by natural compounds / A. Sznarkowska, A. Kostecka, K. Meller [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 28. – № 8(9). – P. 15996–16016.

102. Jafari, S.M., Nanotechnology Approaches for Increasing Nutrient Bioavailability / S.M. Jafari, D.J. McClements // *Advances in food and nutrition research*. – 2017. – № 81. – P. 1-30.

103. Jeon, S.M. Antiobesity and vasoprotective effects of resveratrol in apoE-deficient mice / S.M. Jeon, S.A. Lee, M.S. Choi // *Journal of Medicinal Food*. – 2014. – № 17 (3). – P. 310-316.

104. Jug, M. Cyclodextrin based Pharmaceuticals / M. Jug, M. Beaeireviae-Laaean // *RAD Medical Sciences*. – 2008. – Vol. 499 – P. 9-26.

105. Khan, S.I. Epigenetic events associated with breast cancer and their prevention by dietary components targeting the epigenome / S.I. Khan // *Chemical Research in Toxicology* – 2012. – Vol. 25. – № 1. – P. 61–73.

106. Kirkham, P. Oxidative stress in asthma and COPD: antioxidants as a therapeutic strategy / P. Kirkham, I. Rahman // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2006. – Vol. 111 (2). – P. 476-494.

107. Knepper, T.P. Analysis and Fate of Surfactants and the Aquatic Environment / T.P., Knepper, D. Barceló, de Voogt, P. // 1st Edition, Elsevier Science, 2003. – Vol. 40. - P. 994 - ISBN: 9780444509352

108. Kulkarni, S.S., Cantó, C. The molecular targets of resveratrol / S.S. Kulkarni, C. Cantó // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. – 2015. – № 1852 (6). – P. 1114-1123.
109. Lewin, G. The antioxidant system of the organism. Theoretical basis and practical consequences / G. Lewin, I. Popov // *Med Hypotheses*. - 1994. – Vol. 42 – № 4. – P. 269-275.
110. Li, H. Cardiovascular effects and molecular targets of resveratrol / H. Li, N. Xia, U. Förstermann // *Nitric Oxide*. – 2012. – № 26 (2). – P. 102-110
111. Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats / L. Rivera, R. Morón, A. Zarzuelo [et al.] // *Biochemical Pharmacology*. – 2009. – № 77(6). – P. 1053–1063.
112. Lu, W. Emulsion-based encapsulation and delivery systems for polyphenols / W. Lu, A.L. Kelly, S. Miao // *Trends in Food Science & Technology*. – 2016. – Vol. 47. – P. 1-9
113. Lushchak, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification / V.I. Lushchak // *Chemico-Biological Interactions*. – 2014. – № 5 (224). – P. 164-75.
114. Mechanisms regulating enhanced human leukocyte antigen class II-mediated CD4 + T cell recognition of human B-cell lymphoma by resveratrol / F.F.Y. Radwan, L. Zhang, A. Hossain [et al.] // *Leukemia & Lymphoma* – 2012. – Vol. 53. – № 2. – P. 305–314.
115. Meng, F. Classification of solid dispersions: correlation to (i) stability and solubility (ii) preparation and characterization techniques / F. Meng, U .Gala, H.Chauhan // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2015. – № 41(9). – P. 1401-1415
116. Micellar solubilization of poorly water-soluble drugs: effect of surfactant and solubilize molecular structure / Z. Vinarov, V. Katev, D. Radeva [et al.] // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2018. – Vol. 44. – № 4. – P. 677-686.
117. Michaelis, L. Free radicals as intermediate steps of oxidation-reduction / L. Michaelis // *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. – 1939. – № 7. –

P.33–49.

118. Munin, A. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds: a Review / A. Munin, F. Edwards-Lévy // *Pharmaceutics*. – 2011. – № 3 (4). – P. 793–829.
119. Nanotechnology-based formulations for resveratrol delivery: Effects on resveratrol in vivo bioavailability and bioactivity / A.C. Santos, I. Pereira, M. Pereira-Silva [et al.] // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2019. – № 180. – P. 127-140.
120. Neuroprotective Mechanisms of Resveratrol in Alzheimer's Disease: Role of SIRT1 / B.A.Q. Gomes, J.P.B. Silva, C.F.R. Romeiro [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2018. – 15 p.
121. New perspectives for citric acid production and application / C.R. Soccol, L.P.S. Vandenberghe, C. Rodrigues [et al.] // *Food Technology and Biotechnology*. – 2006. – № 44(2). – P. 141-150
122. Nihei, T. Inhibitory effect of resveratrol on proteinuria, hypoalbuminemia and hyperlipidemia in nephritic rats / T. Nihei, Y. Miura, K. Yagasaki // *Life Sciences*. – 2001. – № 68. – P. 2845–2852.
123. Oxidative stress, aging, and diseases / I. Liguori, G. Russo, F. Curcio [et al.] // *Clinical Interventions in Aging*. – 2018. – № 13. – 757–772.
124. Oxidative stress and cancer: an overview / V. Sosa, T. Moliné, R. Somoza [et al.] // *Ageing Research Reviews*. – 2013. – № 12(1). – NP. 376-390.
125. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? / T. Hussain, B. Tan, Y. Yin [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. - 2016. № 2016 – P. 1-9
126. Oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction drives inflammation and airway smooth muscle remodeling in patients with chronic obstructive pulmonary disease / C.H. Wiegman, C. Michaeloudes, G. Haji [et al.] // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2015. – № 136(3). – P. 769-780.
127. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health / G. Pizzino, N. Irrera, M. Cucinotta [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2017. – Vol. 2017. – P. 13.
128. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the Interplay / A. Rahal., A.

Kumar, V. Singh [et al.] // BioMed Research International. – 2014. – Vol. 2014. – P. 19.

129. Papas, A.M. Antioxidant status, Diet, Nutrition and Health / A.M. Papas // Boca Raton: CRC Press, 1999. – 650 p. - ISBN 9780367811099

130. Park, E.J. The pharmacology of resveratrol in animals and humans / E.J. Park, J.M. Pezzuto // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease. – 2015. – № 1852(6). – P. 1071-1113.

131. Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent / D.J. Boocock, G.E.S. Faust, K.R. Patel [et al.] // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention – 2007. – № 16 (6). – P. 1246-1252.

132. Polysorbate 80 in medical products and nonimmunologic anaphylactoid reactions / E.A. Coors, H. Seybold, H.F. Merk [et al.] // Ann Allergy Asthma Immunol. – 2005. – Vol. 95. – № 6. – P. 593-599.

133. Potential utility of natural products as regulators of breast cancer-associated aromatase promoters / S.I. Khan, J. Zhao, I.A. Khan [et al.] // Reproductive Biology and Endocrinology – 2011. – № 9. – P. 91.

134. Raederstorff, D. Resveratrol, from experimental data to nutritional evidence: the emergence of a new food ingredient / D. Raederstorff, I. Kunz, J. Schwager // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2013. – № 1290. – P. 136-141.

135. Rasheed, A. Cyclodextrins as drug carrier molecule: a review / A. Rasheed, A.C.K. Kunar, V.V. Sravanth // Scientia Pharmaceutica. – 2008. – № 76. – P. 567-598.

136. Reintjes, T. Solubility enhancement with BASF pharma polymers / T. Reintjes // Solubilizer compendium. - BASF, Lampertheim. – 2011. –130 p.

137. Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) and its properties in oral diseases / D. Perrone, M.P. Fuggetta, F. Ardito [et al.] // Experimental and Therapeutic Medicine. – 2017. – № 14(1). – P. 3–9.

138. Resveratrol and cancer treatment: updates / Z. Jiang, K. Chen, L. Cheng [et al.] // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2017. – № 1403 (1). – P. 59-69.

139. Resveratrol and curcumin suppress immune response through CD28/CTLA-4

- and CD80 co-stimulatory pathway / S. Sharma, K. Chopra, S.K. Kulkarni [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology*. – 2006. – № 147. – P. 155–163.
140. Resveratrol and Its Analogs As Antitumoral Agents For Breast Cancer Treatment / A. Chimento, R. Sirianni, C. Saturnino [et al.] // *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. – 2016. – № 16(9). – P. 699-709.
141. Resveratrol: a review of pre-clinical studies for human cancer prevention / M. Athar, J.H. Back, X. Tang [et al.] // *Toxicology and Applied Pharmacology* – 2007. – № 224 (3). – P. 274–283.
142. Resveratrol attenuates experimental allergic asthma in mice by restoring inositol polyphosphate 4 phosphatase (INPP4A) / J. Aich, U. Mabalirajan, T. Ahmad [et al.] // *International Immunopharmacology*. – 2012. – № 14(4). – P. 438-43.
143. Resveratrol Attenuates Stimulated T-Cells Activation and Proliferation: A Novel Therapy Against Cellular Rejection in Cardiac Transplantation / Nagendran J. C. Bleackley, D.B. Ross [et al.] // *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. – 2013. – № 32 (4). – P. 248–249
144. Resveratrol cocrystals with enhanced solubility and tableability. / Z. Zhou, W. Li, W.-J. Sun [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2016. – 509(1-2). – P. 391–399.
145. Resveratrol depresses the growth of colorectal aberrant crypt foci by affecting bax and p21 expression / L. Tessitore, A. Davit, I. Sarotto [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2000. – № 21. – P. 1619–1622.
146. Resveratrol improves vascular function in patients with hypertension and dyslipidemia by modulating NO metabolism / A. Carrizzo, A. Puca, A. Damato [et al.] // *Hypertension*. – 2013 – № 62 (2). – P. 359–366.
147. Resveratrol in the treatment of pancreatic cancer / Q. Xu, L. Zong, X. Chen [et al.] // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2015. – № 1348 (1). – P. 10-19
148. Resveratrol inhibits glioma cell growth via targeting LRIG1 / L. Liu, Y. Zhang, K. Zhu [et al.] // *Journal of B.U.ON*. – 2018. – № 23 (2). – P. 403-409.
149. Resveratrol modulates phagocytosis of bacteria through an NF- κ B-dependent gene program / M. Iyori, H. Kataoka, H.M. Shamsul [et al.] // *Antimicrobial Agents*

and Chemotherapy. – 2008. – Vol. 52. – № 1. – P. 121–127.

150. Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy / I.A. Siddiqui, V. Sanna, N. Ahmad [et al.] // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2015. – № 1348 (1). – P. 20-31.

151. Resveratrol prevents hypertension and cardiac hypertrophy in hypertensive rats and mice / V.W. Dolinsky, S. Chakrabarti, T.J. Pereira [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2013. – № 1832 (10). – P. 1723-1733.

152. Resveratrol regulates hyperglycemia-induced modulations in experimental diabetic animal model / K. Rehman, K. Saeed, S.M. Munawar [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2018. – № 102. – P. 140-146

153. Resveratrol Role in Autoimmune Disease-A Mini-Review / A.L.B. Oliveira, V.V.S. Monteiro, K.C. Navegantes-Lima [et al.] // *Nutrients*. – 2017. – № 9 (12) – P. 1306-1328

154. Resveratrol: review on therapeutic potential and recent advances in drug delivery / A. Amri, J.C. Chaumeil, S. Sfar [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2012. – № 158 (2). – P. 182-193.

155. Robinson, K. Pre-formulation Studies of Resveratrol / K. Robinson, C. Mock, D. Liang // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2015. – № 41(9). – P. 1464-1469

156. Salager, J.L. Surfactants types and uses. Laboratory of formulation, interfaces, rheology and processes / J.L. Salager // Merida, Venezuela: Universidad De Los Andes. FIRP booklet. – 2002. – p. 50.

157. Schott, H. Solubility parameter and hydrophilic-lipophilic balance of nonionic surfactants / H. Schott // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 1984 – Vol. 73 – № 736. – P. 790-792.

158. Schwartzberg, L.S. Safety of Polysorbate 80 in the Oncology Setting. / L.S. Schwartzberg, R.M. Navari // *Advances in Therapy*. – 2018 - № 35. - P. 754–767

159. Shahidi, F. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review / F. Shahidi, P. Ambigaipalan // *Journal of Functional Foods*. – 2015. – № 18 (Part B). – P. 820-897

160. Sies, H. Oxidative Stress / H. Sies, C. Berndt, D.P. Jones // *Annual Review of Biochemistry*. – 2017. – № 20 (86). – P. 715-748.
161. Sirt1 Is Required for Resveratrol-Mediated Chemopreventive Effects in Colorectal Cancer Cells / C. Buhrmann, P. Shayan, B. Popper [et al.] // *Nutrients*. – 2016. – № 8 (3). – P. 145.
162. Solid lipid nanoparticles as oral delivery systems of phenolic compounds: Overcoming pharmacokinetic limitations for nutraceutical applications / S. Nunes, A.R. Madureira, D. Campos [et al.] // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2017. – № 57(9). – P. 1863-1873.
163. Strickley, R.G. Solubilizing Excipients in Oral and Injectable Formulations / R.G. Strickley // *Pharmaceutical research*. – 2004. – № 21 (2). – P. 201-230.
164. Suppression of Delayed Xenograft Rejection by Resveratrol in a Hamster-to-Rat Cardiac Transplantation Model / Y. Lian, C. Gao, Y. Wu [et al.] // *Transplantation Proceedings*. – 2017. – № 49 (6). – P. 1483-1491.
165. Szejtli, J. Cyclodextrin properties and applications / J. Szejtli // *Clinical Drug Investigation*. – 1990. – № 2. – P. 11-21.
166. Szkudelski, T. Resveratrol and diabetes: from animal to human studies / T. Szkudelski, K. Szkudelska // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2015. – № 1852 (6). – P. 1145-1154.
167. The Role of Resveratrol in Cancer Therapy / J.-H. Ko, G. Sethi, J.Y. Um [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – № 18 (12). – P. 2589.
168. United States Patent, Hydrogel interferon formulations, US 7879320 B2. 2005. [Electronic resource] - URL: <https://patents.google.com/patent/EP1748788A1/en> (дата обращения: 02.05.2018)
169. Van Hoogevest, P. Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs: the industrial perspective / P. Van Hoogevest, X. Liu, A. Fahr // *Expert Opinion on Drug Delivery*. – 2011. – № 8 (11). – P. 1481-1500.
170. Van Poppel, H. Chemoprevention of prostate cancer with nutrients and supplements / H. Van Poppel // *Cancer Management and Research*. – 2011. – №3. – P. 91–100.

171. Vo, C.L.N. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs / C.L.N. Vo, C. Par, B.J. Lee // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2013. – № 85(3). – P. 799-813
172. Wan, L.S.C. CMC of polysorbates / L.S.C. Wan, P.F.S. Lee// *Journal of pharmaceutical sciences*. – 1974. – Vol. 63. – N 1. – P. 136-137.
173. Wang, P. Metabolism and pharmacokinetics of resveratrol and pterostilbene / P. Wang, S. Sang // *Biofactors*. – 2018. – № 44 (1). – P. 16-25.
174. Wenzel, E. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol / E. Wenzel, V. Somoza // *Molecular nutrition & food research*. – 2005. - № 49 (5) – P. 472-481.
175. Wu, Y. Targeting mTOR: evaluating the therapeutic potential of resveratrol for cancer treatment / Y. Wu, F. Liu // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. – 2013. – № 13(7). – P. 1032-1038.
176. Yang, G. Combined effect of SLS and (SBE) 7M- β -CD on the solubilization of NSC-639829 / G. Yang, N. Jain, S.H. Yalkowsky // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2004. – № 269 (1). – P. 141-148.
177. Zhang, H. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects / H.Zhang, R.Tsao // *Current Opinion in Food Science*. – 2016. – № 8. – P. 33-42.
178. Zhao, L. Solubilization of fluasterone / L. Zhao, P. Li, S.H. Yalkowsky // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 1999. – № 88 (10). – P. 967-969.
179. Zordoky, B.N. Preclinical and clinical evidence for the role of resveratrol in the treatment of cardiovascular diseases / B.N. Zordoky, I.M. Robertson, J.R. Dyck // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2015. – № 1852 (6). – P. 1155–1177.
180. Zupančič, Š. Stability and solubility of trans-resveratrol are strongly influenced by pH and temperature / Š. Zupančič, Z. Lavrič, J. Kristl // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2015. – № 93. – P. 196-204

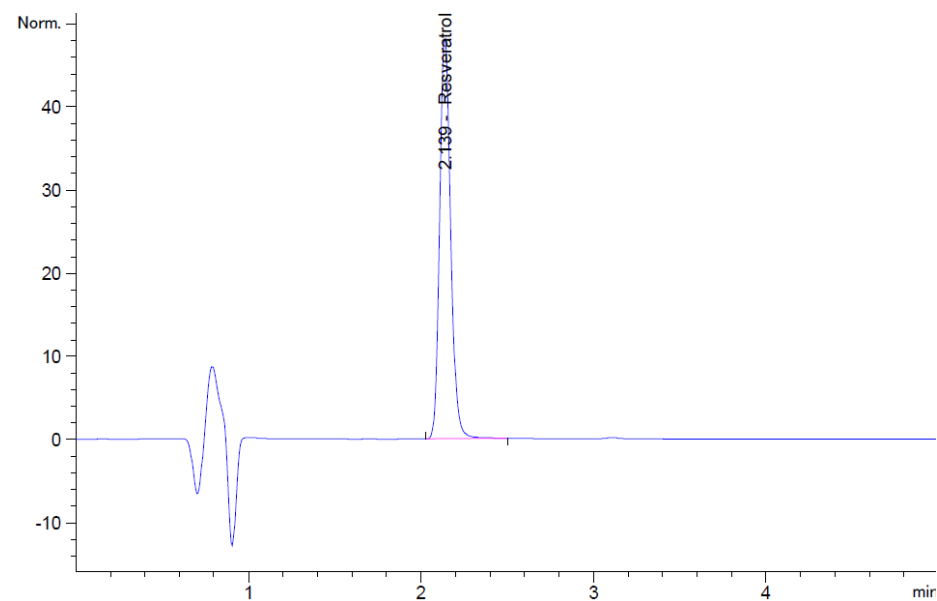
ПРИЛОЖЕНИЕ А

Рисунок А.1 - Хроматограмма количественного определения ресвератрола в таблетках

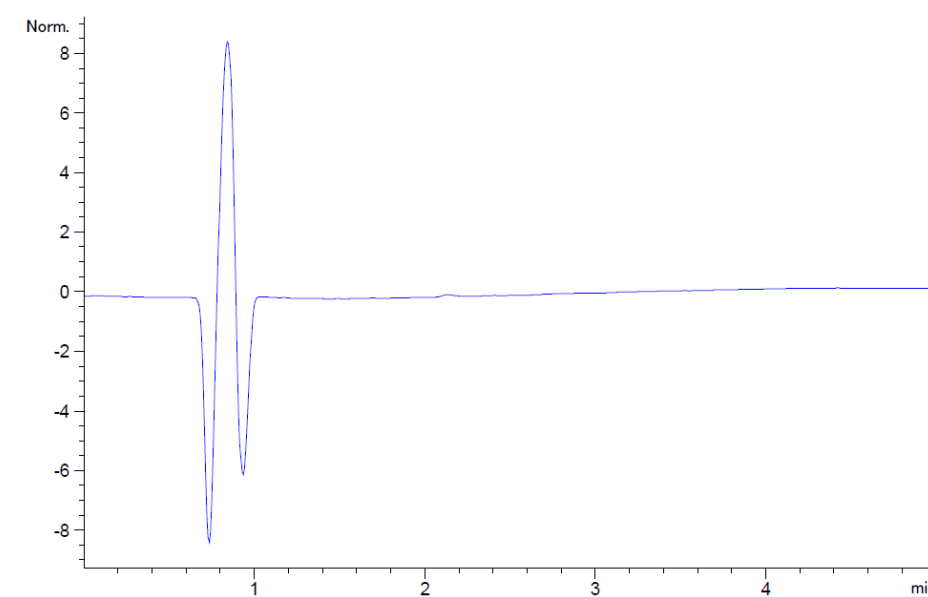


Рисунок А.2 - Хроматограмма таблеток с плацебо

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Рисунок Б.1 - Фотография разработанных таблеток с ресвератролом

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Результаты изучения стабильности таблеток ресвератрола 700 мг путем ускоренных исследований при температуре $40 \pm 2^\circ\text{C}$ и влажности $75 \pm 5\%$, упакованных во флакон из темного стекла с завинчивающейся крышкой, N30 (средний показатель $\pm\text{SN}$, $n=6$)

Таблица В.1 - Серия RSV700-01

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.
Описание	Таблетки круглой формы, плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло-желтого до светло-розового оттенка	Соответствует	Соответствует	Неоднородность окрашивания, появление чуть розоватых пятен
Подлинность	Хроматографический метод: УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин ($\pm 1,5$ сек)	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Растворение	Не менее 80% от номинального содержания ресвератрола за 45 мин	85,45 %	84,88 %	84,03 %
Однородность дозированных единиц	Приемлемое значение для первых 10 дозированных единиц $\leq L1$; $L1 = 15,0$	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,1 %
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,06 %	96,95 %	93,86%

Таблица В.2 - Серия RSV700-02

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.
Описание	Таблетки круглой формы, плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло- желтого до светло-розового оттенка	Соответствует	Соответствует	Неоднородность окрашивания, появление чуть розоватых пятен
Подлинность	Хроматографический метод: УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин ($\pm 1,5$ сек)	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Растворение	Не менее 80% от номинального содержания действующего вещества за 45 мин	85,45 %	84,88 %	84,03 %
Однородность дозированных единиц	Приемлемое значение для первых 10 дозированных единиц $\leq L1$; $L1 = 15,0$	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,1 %
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,06 %	96,95 %	93,85%

Таблица В.3 - Серия RSV700-03

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.
Описание	Таблетки круглой формы, плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло-желтого до светло-розового оттенка	Соответствует	Соответствует	Неоднородность окрашивания, появление чуть розоватых пятен
Подлинность	Хроматографический метод: УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин ($\pm 1,5$ сек)	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Растворение	Не менее 80% от номинального содержания действующего вещества за 45 мин	85,45 %	84,88 %	84,03 %
Однородность дозированных единиц	Приемлемое значение для первых 10 дозированных единиц $\leq L1$; $L1 = 15,0$	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,1 %
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,06 %	96,94 %	93,84%

Результаты изучения стабильности таблеток ресвератрола 700 мг методом долгосрочных исследований при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ и влажности $60 \pm 5\%$, упакованных во флакон из темного стекла с закручивающейся крышкой, N30. (средний показатель $\pm \text{SN}$, $n=6$)

Таблица В.4 - Серия RSV700-11

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.	39 мес.
Описание	Таблетки круглой формы, плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло-желтого до светло-розового оттенка	Соответствует								Коричневого оттенка вкрапления	
Подлинность	УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин (±1,5 сек)	Соответствует									

Продолжение таблицы В.4

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.	39 мес.
Растворение	Не менее 80% от номинального содержания ДВ за 45 мин	85,45 ±1,3%	85,35 ±1,3%	85,28 ±1,3%	85,10 ±1,2%	84,44 ±1,2%	84,13 ±1,2%	84,05 ±1,1%	84,00 ±1,1%	83,94 ±1,1%	83,92 ±1,1%
Однородность дозированных единиц	Приемлемое значение для первых 10 дозированных единиц $\leq L1$; $L1 = 15,0$	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,2 %	AV = 10,2 %	AV = 10,2 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,06 %	99,77 %	98,97%	97,76%	95,56%	95,57%	94,38%	94,23%	93,33%	92,78%

Таблица В.5 - Серия RSV700-12

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.	39 мес.
Описание	Таблетки круглой формы,плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло-желтого до светло-розового оттенка	Соответствует							Коричневого оттенка вкрапления		
Подлинность	Хроматографический метод: УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин (±1,5 сек)	Соответствует									
Растворение	Не менее 80% от номинального содержания действующего вещества за 45 мин	85,45 ±1,3%	85,34 ±1,3%	85,28 ±1,3%	85,10 ±1,2%	84,44 ±1,2%	84,13 ±1,2%	84,04 ±1,1%	84,00 ±1,1%	83,93 ±1,1%	83,90 ±1,1%
Однородность дозированных единиц	Приемлемое значение для первых 10 дозированных единиц ≤ L1; L1 = 15,0	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,2 %	AV = 10,2 %	AV = 10,2 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,06 %	99,77 %	98,99%	97,76%	95,58%	95,57%	94,38%	94,23%	93,33%	92,77%

Таблица В.6 - Серия RSV700-13

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.	39 мес.
Описание	Таблетки круглой формы,плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло-желтого до светло-розового оттенка	Соответствует							Коричневого оттенка вкрапления		
Подлинность	УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин (±1,5 сек)	Соответствует									
Растворение	Не менее 80% от номинального содержанияДВ за 45 мин	85,45 ±1,3%	85,35 ±1,3%	85,28 ±1,3%	85,10 ±1,2%	84,44 ±1,2%	84,13 ±1,2%	84,02 ±1,1%	84,00 ±1,1%	83,93 ±1,1%	83,92 ±1,1%
Однородность дозированных единиц	Приемлемое значение для первых 10 дозированных единиц ≤ L1; L1 = 15,0	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,2 %	AV = 10,2 %	AV = 10,2 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,05 %	99,77 %	98,97%	97,76%	95,58%	95,57%	94,38%	94,24%	93,33%	92,77%

Результаты изучения стабильности таблеток ресвератрола 700 мг методом долгосрочных исследований при температуре $5 \pm 3^\circ\text{C}$, упакованных во флакон из темного стекла с завинчивающейся крышкой, N30. (средний показатель $\pm\text{SN}$, n=6)

Таблица В.7 - Серия RSV700-31

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.	39 мес.
Описание	Таблетки круглой формы, плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло-желтого до светло-розового оттенка	Соответствует									
Подлинность	УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин ($\pm 1,5$ сек)	Соответствует									
Растворение	Не менее 80% от номинального содержания ДВ за 45 мин	85,46 $\pm 1,3\%$	85,42 $\pm 1,2\%$	85,41 $\pm 1,2\%$	85,40 $\pm 1,2\%$	85,39 $\pm 1,2\%$	84,88 $\pm 1,1\%$	84,35 $\pm 1,1\%$	84,00 $\pm 1,1\%$	83,93 $\pm 1,1\%$	83,92 $\pm 1,1\%$

Продолжение таблицы В.7

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.	39 мес.
Описание	Таблетки круглой формы, плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло-желтого до светло-розового оттенка	Соответствует									
Подлинность	УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин ($\pm 1,5$ сек)	Соответствует									
Растворение	Не менее 80% от номинального содержания ДВ за 45 мин	85,46 $\pm 1,3\%$	85,42 $\pm 1,2\%$	85,41 $\pm 1,2\%$	85,40 $\pm 1,2\%$	85,39 $\pm 1,2\%$	84,88 $\pm 1,1\%$	84,35 $\pm 1,1\%$	84,00 $\pm 1,1\%$	83,93 $\pm 1,1\%$	83,92 $\pm 1,1\%$
Однородность дозированных единиц	Приемлемое значение для первых 10 дозированных единиц $\leq L1$; $L1 = 15,0$	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,2 %	AV = 10,2 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,05 %	99,99 %	99,98%	99,89%	99,28%	98,83%	97,57%	96,23%	95,34%	95,19%

Таблица В.8 - Серия RSV700-32

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.	39 мес.
Описание	Таблетки круглой формы, плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло-желтого до светло-розового оттенка	Соответствует									
Подлинность	Хроматографический метод: УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин ($\pm 1,5$ сек)	Соответствует									
Растворение	Не менее 80% от номинального содержания действующего вещества за 45 мин	85,46 $\pm 1,3\%$	85,42 $\pm 1,2\%$	85,41 $\pm 1,2\%$	85,40 $\pm 1,2\%$	85,40 $\pm 1,2\%$	84,87 $\pm 1,1\%$	84,35 $\pm 1,1\%$	84,00 $\pm 1,1\%$	83,93 $\pm 1,1\%$	83,92 $\pm 1,1\%$
Однородность дозированных единиц	Приемлемое значение для первых 10 дозированных единиц $\leq L1$; $L1 = 15,0$	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,2 %	AV = 10,2 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,05 %	99,99 %	99,95%	99,89%	99,28%	98,83%	97,57%	96,24%	95,33%	95,18%

Таблица В.9 - Серия RSV700-33

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.	39 мес.
Описание	Таблетки круглой формы, плоские с риской и фаской, с гладкой поверхностью без сколов светло-желтого до светло-розового оттенка	Соответствует									
Подлинность	Хроматографический метод: УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин ($\pm 1,5$ сек)	Соответствует									
Растворение	Не менее 80% от номинального содержания действующего вещества за 45 мин	85,46 $\pm 1,3\%$	85,42 $\pm 1,2\%$	85,40 $\pm 1,2\%$	85,40 $\pm 1,2\%$	85,38 $\pm 1,2\%$	84,88 $\pm 1,1\%$	84,35 $\pm 1,1\%$	83,99 $\pm 1,1\%$	83,93 $\pm 1,1\%$	83,92 $\pm 1,1\%$
Однородность дозированных единиц	Приемлемое значение для первых 10 дозированных единиц $\leq L1$; $L1 = 15,0$	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,3 %	AV = 10,2 %	AV = 10,2 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %	AV = 10,1 %
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,05 %	99,99 %	99,98%	99,89%	99,28%	98,83%	97,57%	96,24%	95,33%	95,18%

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

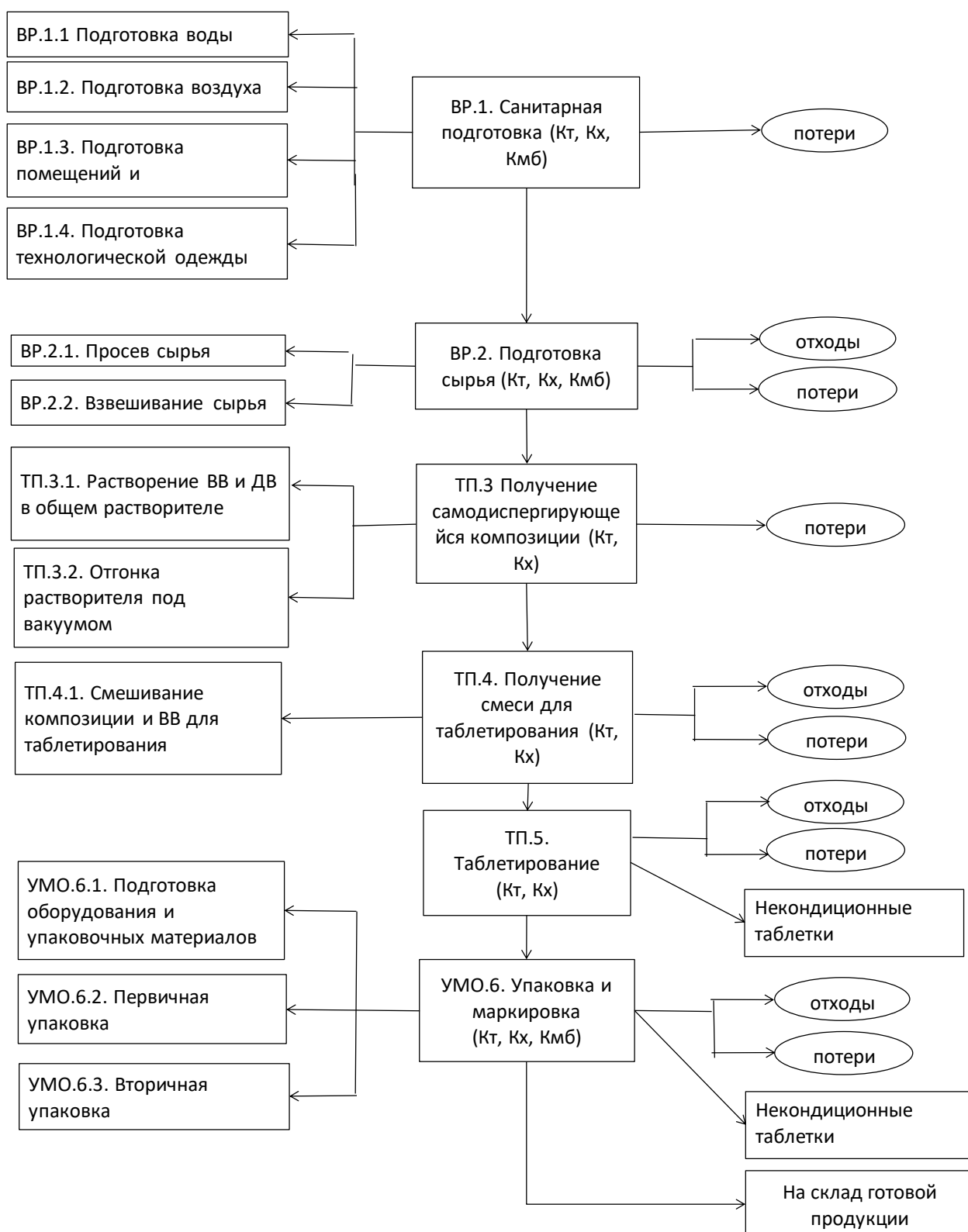
Таблица Г.1 – Результаты ускоренных исследований композиции 10% RES + метил- β -CD + 2,5% AA при температуре 25 ± 2 °C и влажности 60 ± 5 % (средний показатель $\pm$ SN, n=6)

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.
Описание	Крупнодисперсный порошок аморфного вещества Белого цвета	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Подлинность	Хроматографический метод: УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин ($\pm 1,5$ сек)	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Количественное содержание	От 95% до 105 %	100,95 % $\pm 1,1\%$	99,86 % $\pm 1,3\%$	95,92% $\pm 1,3\%$

Таблица Г.2 – Результаты ускоренных исследований композиции 10% RES + метил- β -CD + 2,5% AA при температуре 5 ± 3 °C (средний показатель $\pm$ SN, n=6)

Показатель качества	Нормы (допустимые пределы)	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.	39 мес.
Описание	Крупнодисперсный порошок аморфного вещества Белого цвета	Соответствует									
Подлинность	Хроматографический метод: УФ – ВЭЖХ. Время удерживания ресвератрола = 2,2 мин ($\pm 1,5$ сек)	Соответствует									
Количественное содержание	От 95% до 105 %	101,96 $\pm 1,1\%$	99,92 $\pm 1,1\%$	99,90 $\pm 1,2\%$	98,55 $\pm 1,3\%$	98,38 $\pm 1,3\%$	98,00 $\pm 1,3\%$	97,85 $\pm 1,4\%$	97,10 $\pm 1,4\%$	96,33 $\pm 1,2\%$	96,28 $\pm 1,2\%$

ПРИЛОЖЕНИЕ Д



Кт, Кх, Км – технологический, химический и микробиологический контроль
соответственно

Рисунок Д.1 – Технологическая схема получения таблеток с ресвератролом

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Таблица Е.1 - Отчёт по валидации методики количественного определения содержания ресвератрола

Аналитическая характеристика	Критерий приемлимости	Результат
Специфичность	Вспомогательные вещества, входящие в состав таблетки не должны оказывать влияния на время удерживания и величину пика ресвератрола на хроматограмме	Результат соответствует критерию, отклонений не выявлено
Линейность	Коэффициент корреляции не менее 0,99	Для диапазона концентраций уравнение линейной зависимости имеет вид $y=25,233x+10,12$, коэффициент корреляции равен R^2 0,9978
Прецизионность (сходимость)	Относительная ошибка среднего результата не более 2,0 %	Относительная ошибка среднего результата составляет 0,0692
Правильность	Относительная ошибка среднего результата не более 2,0%. Значения, принимаемые за истинные, должны лежать внутри доверительного интервала.	Относительная ошибка среднего результата составляет 0,13. Нижняя граница ДИ 93,30, верхняя граница ДИ 93,84, ДИ ($\pm \Delta Z$) 0,27
Диапазон аналитического метода	70-130% от рабочей концентрации	Данная методика обеспечена приемлемой точностью, правильностью и линейностью в экстремальных точках диапазона (70 и 130 %) так же хорошо, как при нормальных рабочих концентрациях

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

Лабораторный регламент на производство

«Таблетки с ресвератролом, 60 мг»

Для служебного пользования. Экз. Единств.

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор ООО «В-МИН»



Прокопец Н.И.

04 2025 г.

ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ

на производство «Таблетки с ресвератролом, 60 мг»

ЛР № 001-01-05-2025

срок действия регламента до « 07 » апреля 2030 г.

СОГЛАСОВАН

 (наименование, дата и номер
 документа уполномоченного органа
 государства признания,
 в соответствии с которым
 согласован нормативный
 документ по качеству)

УТВЕРЖДЕН

 (наименование, дата и номер
 документа уполномоченного органа
 референтного государства,
 в соответствии с которым)
 утвержден нормативный
 документ по качеству)

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ ПО КАЧЕСТВУ

Торговое наименование (торговые наименования) лекарственного препарата:
«Таблетки с ресвератролом, 60 мг»

Международное непатентованное наименование:

3,5,4'-тригидрокси-транс-стильбен

(при его отсутствии - общепринятое (группировочное) наименование, а при отсутствии последнего - химическое наименование)

Лекарственная форма: таблетки

Дозировка: 60 мг

Держатель регистрационного удостоверения:

 (наименования держателя регистрационного удостоверения и государства его регистрации
 (места нахождения))

Номер и дата нормативного документа:

 (номер и дата регистрационного удостоверения, выданного референтным государством)

ПРИЛОЖЕНИЕ И

Исследование действия ресвератрола и его композиций с твином 80 и метил-бета-циклодекстрином на показатели липидного и белкового обмена при пероральном приёме у мышей самок линии C57Black/6J возрастом 8-10 недель, полученных из питомника лабораторных животных филиала "Столбовая" ФГБНУ "Научный центр биомедицинских технологий" ФМБА России. Животных содержали группами по 3 особи в прозрачных пластмассовых клетках из поликарбоната на подстилке из опилок при 20-22 °С и режиме освещения 12/12 ч. Работу с животными выполняли в соответствии с Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [93] и приказом Минздравсоцразвития России № 199н от 04.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» [30].

Мыши самки линии C57Black/6J были разделены на 5 группы по 6 особей в каждой. Группа I получала комбикорм без добавок. Группа II - комбикорм, в который было добавлено рафинированное подсолнечное масло, окисленное ускоренным методом при избытке кислорода, в реакторе OXITEST при температуре 80°C (далее "масло ПОЛ"). Группа III получала комбикорм с добавлением "масла ПОЛ" и ресвератрола, предварительно растворённого в воде. Группа IV получала рацион, аналогичный группе III, но с добавлением ресвератрола в составе композиции с твином 80 [34]. Группа V получала рацион, аналогичный группе III, но с добавлением ресвератрола в составе композиции с метил-β-ЦД. Рацион питания также представлен в таблице И.1. Доза ресвератрола составила 10 мг/кг массы. Продолжительность эксперимента - 21 сутки.

Таблица И.1 - Рацион питания животных в эксперименте «Перекиное окисление липидов»

Группа	Рацион, пол
I	Контроль, самки
II	ПОЛ, самки
III	ПОЛ + 10 мг/кг м.т. ресвератрола, самки
IV	ПОЛ + 10 мг/кг м.т. ресвератрола + Tw80, самки
V	ПОЛ + 10 мг/кг м.т. ресвератрола + MbCD, самки

Проведённый биохимический анализ крови показал следующие результаты. У мышей групп III - V было выявлено достоверное снижение уровня билирубина в крови по сравнению с группами I и II. Ресвератрол (как в чистом виде, так и в составе обеих композиций) уменьшал концентрацию мочевины в плазме крови (рисунок И.1).

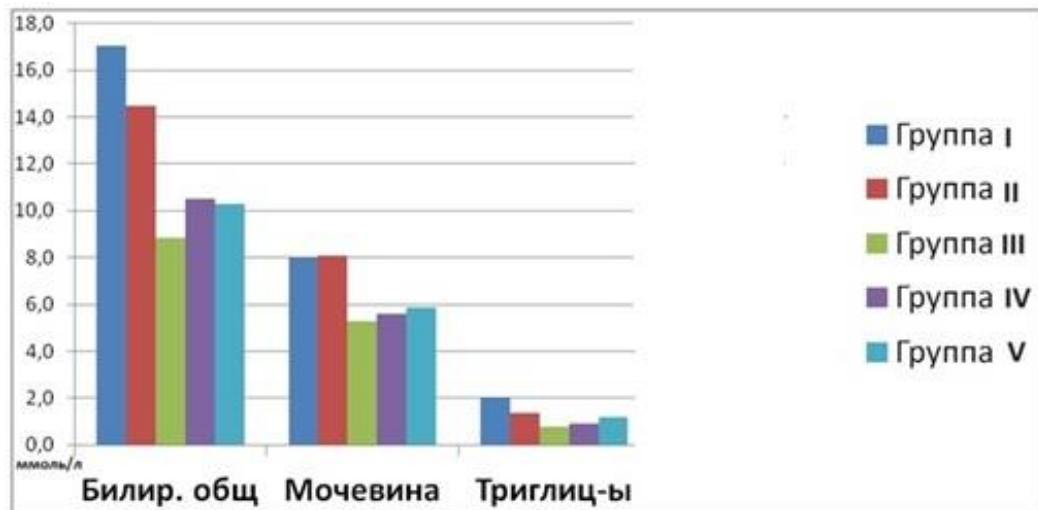


Рисунок И.1 – Воздействие ресвератрола на биохимические показатели: общий билирубин, триглицериды, мочевины

Уменьшение концентрации триглицеридов (рисунок И.1) и холестерина (рисунок И.2) в крови при употреблении ресвератрола с метил- β -ЦД по сравнению с группами I и II, не принимавшими корм с ресвератролом, свидетельствует о сильном антиоксидантном эффекте ресвератрола и возможности его применения в качестве лекарственного препарата для профилактики гиперхолестеринемии.

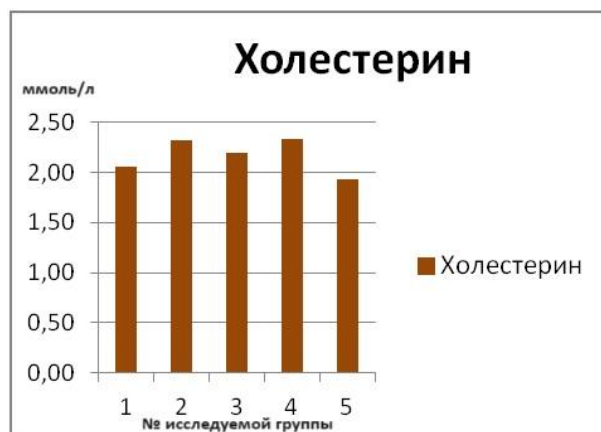


Рисунок И.2 – Воздействие ресвератрола на биохимические показатели: холестерин

У группы мышей, принимавшей композиции ресвератрола с твином 80 гипохолестеринэмический, эффект был более выраженным, что видно на рисунках И.1 и И.2.

Приём композиции с метил- β -циклодекстрином снижал содержание общего белка, что может указывать на влияние этой композиции на белковый обмен (рисунок И.3), но при этом почти не влиял на уровень альбуминов, что свидетельствует о необходимости проведения дополнительных долгосрочных доклинических исследований о влиянии ресвератрола на белковый обмен.

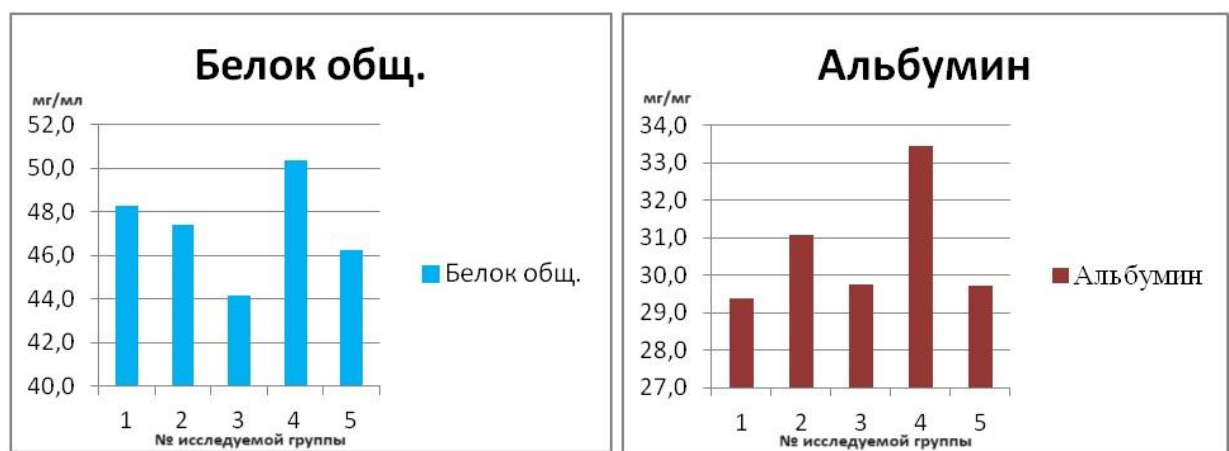


Рисунок И.3 – Воздействие ресвератрола на биохимические показатели: альбумин, общий белок

Прием ресвератрола в композиции с твином 80 привел к сильному повышению альбумина и общего белка, который может свидетельствовать о сильном обезвоживании при недостаточном поступлении воды в организм, о чем свидетельствует небольшое количество собранной суточной мочи [11].

Выявлено общее положительное действие ресвератрола и его композиции с М- β -ЦД на основные биохимические и интегральные показатели в условиях интенсификации ПОЛ, вызванной потреблением окисленного масла. Но нужны более долгосрочные и полномасштабные исследования для выявления значительного антиоксидантного эффекта ресвератрола в составе композиции.