

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Ситенков Александр Юрьевич

**Создание и исследование микро- и наноразмерных систем доставки на
основе полиметакрилатных комплексов**

14.04.01- Технология получения лекарств

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

кандидат фармацевтических наук,
доцент Мустафин Руслан Ибрагимович

Научный консультант:

доктор медицинских наук,
профессор Семина Ирина Ивановна

Казань – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. Обзор литературы	15
1.1. Микро- и наноразмерные системы доставки активных фармацевтических ингредиентов	15
1.2. Инкапсулированные системы доставки лекарственных веществ.....	16
1.3. Методы получения микро- и наноразмерных систем доставки лекарств...	20
1.4. Применение интерполимерного взаимодействия при создании микро- и наноразмерных систем доставки активных фармацевтических ингредиентов.	34
ГЛАВА 2. Объекты и методы исследования	36
2.1. Объекты исследования	36
2.1.1. Индометацин.....	36
2.1.2. Eudragit® EPO/E100	38
2.1.3. Eudragit® S100	39
2.1.4. Eudragit® L30D-55.....	40
2.1.5. Eudragit® RL 30 D.....	41
2.1.6. Альгинат натрия	42
2.1.7. Таблетки, покрытые оболочкой, «Индометацин», 25 мг	43
2.1.8. Таблетки, пролонгированного действия, «Метиндол Ретард», 75 мг	43
2.2. Методы исследования.....	43
2.2.1. Методика получения микрокапсул методом ультразвукового распыления.....	43
2.2.2. Получение полимер-лекарственных комплексов EPO/ИНД, RL/ИНД.....	46
2.2.3. Получение интерполиэлектrolит-лекарственного комплекса EPO/S100/ИНД	47

2.2.4. Гравиметрия.....	50
2.2.5. Вискозиметрия.....	50
2.2.6. УФ-спектрофотометрия.....	51
2.2.7. ИК-спектроскопия.....	53
2.2.8. Элементный органический анализ	54
2.2.9. Дифференциальная сканирующая калориметрия с модулированной температурой.....	54
2.2.10. Порошковая рентгеновская дифракция	55
2.2.11. Оценка размера частиц и дзета-потенциала	55
2.2.12. Исследование кинетики набухания	56
2.2.13. Определение степени сыпучести порошков.....	56
2.2.14. Получение таблеток ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	57
2.2.15. Тест «Растворение».....	57
2.2.16. Фармакокинетическая оценка систем на основе ПЛК и ИПЭЛК с участием химически комплементарных сополимеров Eudragit в экспериментах <i>in vivo</i>	58
2.2.17. Исследование острой токсичности.....	60
2.2.18. Тест «открытое поле»	60
2.2.19. Определение размера и формы микрокапсул с индометацином, полученных методом ультразвукового распыления.....	61
2.2.20. Статистическая обработка полученных результатов	61
ГЛАВА 3. Разработка и исследование микрокапсулированной системы доставки индометацина.....	62

3.1. Получение микрокапсул с индометацином методом ультразвукового распыления и интерполиэлектrolитного взаимодействия.....	62
3.1.1. Получение микрокапсул плацебо	63
3.2. Определение размера и формы микрокапсул типов А, В и С	64
3.3. Оценка инкапсуляционной эффективности и количественного содержания индометацина в микрокапсулах типов А, В и С	67
3.4. Оценка кислотоустойчивости и высвобождения индометацина из микрокапсул типа В и С	68
3.5. Оценка структурных особенностей микрокапсул типа С методом ДСК-МТ.....	71
3.6. Оценка структурных особенностей микрокапсул типа С методом ИК-спектроскопии.....	72
3.7. Технологическая схема получения кишечнорастворимых микрокапсул ..	73
ГЛАВА 4. Получение и физико-химическое исследование полимер-лекарственных и интерполиэлектrolит-лекарственных комплексов с индометацином на основе Eudragit®RL30D, Eudragit®ЕРО и Eudragit®S100	75
4.1. Гравиметрическое исследование ПЛК RL/ИНД.....	75
4.2. Исследование степени взаимодействия RL30D и ИНД.....	76
4.3. Исследование структурных особенностей ПЛК RL/ИНД состава 15:1, методом ИК-спектроскопии.....	77
4.4. Исследование структурных особенностей ПЛК RL/ИНД состава 15:1 методом ДСК-МТ.....	78
4.5. Оценка размера и дзета-потенциала частиц ПЛК RL/ИНД.....	78
4.6. Физико-химическое исследование взаимодействия Eudragit® ЕРО и Eudragit® S100.....	79

4.6.1. Получение интерполиэлектролитного комплекса Eudragit® EPO/Eudragit® S100	79
4.6.2. Вязкозиметрический анализ надосадочной жидкости.....	79
4.6.3. Гравиметрическое исследование ИПЭК EPO/S100.....	81
4.6.4. Элементный органический анализ ИПЭК Eudragit®EPO/S100	81
4.6.5. Исследование структурных особенностей ИПЭК EPO/S100 методом ИК – спектроскопии.	82
4.6.6. Исследование структурных особенностей ИПЭК EPO/S100 методом ДСК-МТ	83
4.6.7. Изучение кинетики набухания ИПЭК EPO/S100	84
4.7. Гравиметрическое и УФ-спектрофотометрическое исследование ПЛК EPO/ ИНД	86
4.8. Исследование взаимодействия индометацина с сополимерами Eudragit® EPO и Eudragit® S100	87
4.8.1. Гравиметрическое и УФ-спектрофотометрическое исследование ИПЭЛК EPO/S100/ИНД в водно-солевых средах	87
4.8.2. Вязкозиметрическое исследование ИПЭЛК EPO/S100/ИНД	88
4.8.3. Элементный органический анализ ИПЭЛК EPO/S100/ИНД _{4,5:1:1}	89
4.8.4. Исследование структурных особенностей ИПЭЛК EPO/S100/ИНД состава 4,5:1:1 методом ИК-спектроскопии.....	91
4.8.5. Исследование структурных особенностей ПЛК EPO/ИНД и ИПЭЛК EPO/S100/ИНД методом ближней ИК-спектроскопии	93
4.8.6. Исследование структурных особенностей ПЛК EPO/ИНД и ИПЭЛК EPO/S100/ИНД спектроскопией комбинационного рассеяния.....	95
4.8.7. Исследование структурных особенностей ПЛК EPO/ИНД и ИПЭЛК EPO/S100/ИНД методами ДСК-МТ и порошковой рентгеновской дифракции...	97

4.8.8. Оценка размера и поверхностного заряда частиц ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	100
ГЛАВА 5. Фармацевтическое исследование полимер-лекарственных и интерполиэлектролит-лекарственных комплексов с индометацином на основе Eudragit® RL, Eudragit® ЕРО и Eudragit® S100	102
5.1. Изучение кинетики высвобождения ИНД из порошков ПЛК RL/ИНД 15:1, ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 in vitro.	102
5.2. Определение степени сыпучести порошка ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	105
5.2.1. Определение сыпучести	105
5.2.2. Определение угла естественного откоса	106
5.2.3. Определение насыпной плотности.....	107
5.3. Изучение кинетики высвобождения ИНД из таблеток на основе ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	108
5.4. Оценка фармакокинетических параметров ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 in vivo.....	110
5.5. Исследование острой токсичности и влияния на поведенческие реакции мышей образца ИПЭК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	113
5.6. Технологическая схема получения и показатели контроля качества порошка ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	113
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....	116
Список сокращений и условных обозначений.....	119
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	120
Приложение 1	145
Приложение 2	156
Приложение 3	160

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Актуальной задачей фармацевтической науки на сегодняшний день становится повышение эффективности и биодоступности уже существующих лекарственных средств. Возможным путем решения данной задачи является разработка микро- и наноразмерных лекарственных форм (ЛФ), способных существенно повысить биофармацевтические характеристики уже существующих и востребованных на фармацевтическом рынке лекарственных препаратов. Одним из таких препаратов является индометацин – нестероидное противовоспалительное средство, широко применяемое в фармакотерапии, последние исследования которого показали эффективность его применения при комплексной терапии рака толстого кишечника. Таким образом получение микро- и наноразмерных ЛФ индометацина для его направленной доставки в область толстого кишечника является важной задачей, для решения которой могут быть использованы интерполиэлектролитные комплексы (ИПЭК) образованные известными полимерами фармацевтического назначения.

Степень разработанности темы исследования

Впервые в мире научной группой ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России под руководством Р.И.Мустафина разработаны и исследованы ИПЭК, образованные противоположно заряженными сополимерами метакриловой кислоты, в качестве пероральных матричных систем доставки с контролируемым высвобождением лекарственного вещества (ЛВ) [33, 35, 37, 153, 154, 159]. При этом особый интерес представляет включение в состав ИПЭК лекарственного вещества с образованием наноразмерного интерполиэлектролит-лекарственного комплекса (ИПЭКЛ), применение которого в фармацевтической технологии может привести к качественному повышению биофармацевтических свойств лекарственных препаратов. Следует отметить, что разработка микро- и нанокомпозиций с использованием сополимеров фармацевтического назначения является актуальным активно развивающимся направлением, с которым связаны

большие перспективы в лекарственной терапии многих заболеваний [14, 15, 23]. При этом поиск технологии позволяющей получать подобные системы в промышленном масштабе, становится на сегодняшний день актуальной задачей. Для её решения может быть использован метод ультразвукового распыления, применение которого для получения инкапсулированных ЛФ в настоящее время активно изучается научно-исследовательской группой Университета Салерно (Италия) под руководством А.А. Барба [72]. Данная технология обладает рядом преимуществ по сравнению с другими способами инкапсулирования: низкие энергозатраты, щадящий режим инкапсулирования, высокий выход и однородность продукта, простое аппаратное оформление. Однако авторами не была исследована возможность сочетания данной технологии с интерполиэлектrolитным взаимодействием и дальнейшим использованием полученных микрокапсул для доставки ЛВ в заданные отделы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Таким образом, проведение исследований, направленных на разработку технологии получения микро- и наноразмерных носителей ЛВ на основе ИПЭК, изучение их структурных особенностей, фармацевтических и фармакологических свойств, позволит получить универсальные композиции с контролируемым высвобождением ЛВ в заданных отделах ЖКТ.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – разработка технологии получения микро- и наноразмерных носителей на основе интерполиэлектrolитных комплексов с индометацином, изучение их физико-химических, биофармацевтических и технологических свойств.

Задачи:

1. Экспериментально установить оптимальные условия получения и получить микрокапсулы с индометацином на основе ИПЭК, образованного Eudragit® E100, Eudragit® L30D-55 и альгинатом натрия, методом ультразвукового распыления;
2. Установить форму, размер, состав и структурные особенности

микрокапсул, полученных методом ультразвукового распыления. Определить эффективность инкапсуляции и количественное содержание индометацина;

3. Исследовать профиль высвобождения индометацина из полученных микрокапсул *in vitro* в средах с рН = 1,2 и рН = 6,8;

4. Исследовать условия получения и синтезировать полимер-лекарственный комплекс (ПЛК) с использованием Eudragit® RL30D и индометацина. Исследовать условия получения и синтезировать ПЛК на основе Eudragit® EPO и индометацина, с целью дальнейшего синтеза ИПЭЛК на основе Eudragit® EPO, Eudragit® S100 и индометацина. Установить размер, дзета-потенциал и структурные особенности, полученных ПЛК и ИПЭЛК.

5. Оценить профиль высвобождения индометацина из порошков ПЛК и ИПЭЛК *in vitro* в средах, имитирующих рН отделов ЖКТ.

6. Охарактеризовать технологические свойства порошка ИПЭЛК: определить сыпучесть, угол естественного откоса и сжимаемость порошка.

7. Получить таблетки из ПЛК и ИПЭЛК. Исследовать профиль высвобождения индометацина из полученных таблеток.

8. Определить основные фармакокинетические параметры порошков и таблеток на основе ПЛК и ИПЭЛК в экспериментах *in vivo*. Оценить токсичность порошка ИПЭЛК в экспериментах *in vivo*.

Научная новизна исследования

Впервые разработана технология получения микрокапсул с помощью метода ультразвукового (УЗ) распыления на основе интерполиэлектrolитной реакции (ИПЭР) между поликатионом (Eudragit®E100) и полианионами (Eudragit®L30D-55 и альгинатом натрия).

Определены размер и форма полученных микрокапсул, эффективность инкапсулирования и количественное содержание индометацина. В результате исследования установлены структурные особенности полученных микрокапсул методами ИК-спектроскопии и дифференциальной сканирующей калориметрии с модулируемой температурой (ДСК-МТ). Показано высвобождение индометацина из полученных микрокапсул.

Впервые экспериментально подобраны условия получения ПЛК состава поликатион/ЛВ:Eudragit®ЕРО/ индометацин; Eudragit® RL30D/индометацин, а также ИПЭЛК - тройных систем, включающих комплексообразующую пару сополимеров и ЛВ: Eudragit®ЕРО/Eudragit®S100/индометацин. Выявлено оптимальное соотношение исходных компонентов и порядок их смешивания. Установлен состав и структурные особенности полученных комплексов. В полученных ПЛК и ИПЭЛК определено количественное содержание индометацина. Изучены механизмы высвобождения индометацина из ПЛК и ИПЭЛК в средах, имитирующих рН отделов ЖКТ.

Показано отсутствие токсичности порошка ИПЭЛК Eudragit® ЕРО/Eudragit® S100/индометацин на моделях экспериментальных лабораторных животных (мыши). В условиях *in vivo* (на кроликах) определены основные фармакокинетические параметры ПЛК Eudragit®ЕРО/индометацин и ИПЭЛК Eudragit® ЕРО/Eudragit® S100/индометацин.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Разработаны научно-обоснованные подходы к получению систем доставки индометацина на основе ПЛК и ИПЭЛК, обеспечивающих повышение его биодоступности. Разработана технология получения микрокапсул с индометацином методом УЗ-распыления на основе ИПЭР между Eudragit®Е100, Eudragit®L30D-55 и альгинатом натрия, позволяющая получать кишечнорастворимые микрокапсулы без использования органических растворителей с использованием простого аппаратного оформления.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Технология получения микрокапсул с индометацином методом ультразвукового распыления на основе интерполиэлектролитной реакции между Eudragit®Е100, Eudragit®L30D-55 и альгинатом натрия.

2. Результаты исследования состава, структурных особенностей и диффузионно-транспортных свойств микрокапсул, полученных методом ультразвукового распыления.

3. Результаты физико-химического исследования разработанных ПЛК (состава: Eudragit®RL30D/индометацин; Eudragit®ЕРО/ индометацин) и ИПЭЛК (состава: Eudragit®ЕРО/Eudragit®S100/индометацин).

4. Результаты исследования профиля высвобождения индометацина из порошков и таблеток на основе ПЛК и ИПЭЛК *in vitro* в средах, имитирующих рН отделов ЖКТ. Результаты по определению технологических свойств порошка ИПЭЛК.

5. Результаты фармакокинетического исследования порошков ПЛК и ИПЭЛК с индометацином и таблеток на их основе при однократном пероральном введении кроликам. Результаты исследования токсичности ИПЭЛК с модельным лекарственным веществом индометацином на лабораторных животных (мыши).

Методология и методы исследования

Методология работы основывается на физико-химических, фармацевтических и фармакологических исследованиях при разработке ПЛК, ИПЭЛК и микрокапсул на основе химически комплементарных поли(мет)акрилатов. Выход ИПЭР устанавливали гравиметрически. Определение количественного содержания индометацина в полученных образцах ПЛК и ИПЭЛК, а также эффективности инкапсулирования проводилось УФ-спектрофотометрически. Форма и размер полученных микрокапсул определены методом оптической микроскопии. Для доказательства образования ПЛК и ИПЭЛК, а также исследования структурных особенностей полученных микрокапсул применена ИК-спектроскопия и ДСК-МТ. Размер и дзета-потенциал частиц ПЛК и ИПЭЛК определяли методами динамического (ДРС) и электрофоретического рассеяния света (ЭРС), соответственно. С целью выявления стехиометрического (мольного) состава образцов ИПЭЛК проведен элементный органический анализ по определению содержания С, N и H. Оценку высвобождения индометацина (ИНД) из ПЛК, ИПЭЛК и микрокапсул проводили на тестере растворения. Количественное определение ИНД в экспериментах по высвобождению проводили методом УФ-спектрофотометрии.

Исследование возможных полиморфных переходов индометацина в образцах ПЛК и ИПЭЛК проводили методами БИК-, КР-спектроскопии и порошковой рентгеновской дифракции. Основные технологические характеристики оптимального образца ИПЭЛК в сравнении с индивидуальными сополимерами (Eudragit® EPO, Eudragit®S100) оценивали по показателям насыпной плотности, сыпучести, угла естественного откоса согласно Государственной Фармакопее РФ XIV издания. Определение количественного содержания индометацина в плазме крови кроликов в экспериментах *in vivo* проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ – детектированием в диапазоне концентраций 0,5 – 8,0 мкг/мл ($R^2 = 0,997$).

Достоверность научных положений и выводов

Научные положения, выводы, сформулированные в диссертации, являются обоснованными, достоверными и логически вытекают из результатов эксперимента. Обоснованность и достоверность научных положений и выводов базируется на большом количестве привлеченных источников информации и фактическом материале, полученном с использованием современных физико-химических, фармацевтических и фармакологических методов анализа. Все полученные результаты статистически обработаны с использованием компьютерной программы Excel.

Апробация результатов исследования

Основные результаты исследования доложены на Всероссийской научно-практической конференции «Здоровье человека в XXI веке» (Казань, 2010, 2011 гг.), Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине» (Казань, 2014, 2015 гг.), а также на международных конференциях: 10-ом Симпозиуме по фармацевтическим наукам (10th Int. Sym. On Pharm. Sci., Ankara, Turkey, June 26-29, 2012), ежегодном симпозиуме Американской Ассоциации ученых в области фармации (AAPS Annual Meeting, Orlando, Fla. U.S.A., October 25-29, 2015), 38-м и 42-м Ежегодных конгрессах общества по контролируемому высвобождению (38nd Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society, Maryland, USA, July 30-August 3, 2011; 42nd Annual

Meeting & Exposition of the Controlled Release Society, Edinburgh, Scotland, July 26-29, 2015).

Апробация диссертации состоялась 26 декабря 2018 г. на заседании научной проблемной комиссии по химико-фармацевтическим наукам ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Личный вклад автора

Основная часть исследований (90 %) выполнена лично автором диссертационной работы. Во всех исследованиях, проведенных с соавторами, автору принадлежит постановка задачи, непосредственное участие в эксперименте, интерпретация полученных результатов. Часть экспериментальных исследований выполнена автором в ходе научной стажировки в Университете Салерно (Италия).

Внедрение результатов исследования

Практическая значимость исследования подтверждена актом наработки экспериментальной партии «Интерполиэлектролит-лекарственного комплекса на основе химически комплементарных поли(мет)акрилатов с индометацином» для доклинического изучения на базе инновационного предприятия ООО «ИнтерЛЕК», являющегося Резидентом фонда «Сколково» и АО «Татхимфармпрепараты».

Полученные в диссертационной работе результаты физико-химической и биофармацевтической оценки полимер-лекарственных и интерполиэлектролит-лекарственных комплексов, включены в учебный процесс Института фармации ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.04.01 – технология получения лекарств, а именно: пункту 3 – Разработка технологий получения субстанции и готовых лекарственных форм и пункту 6 – Исследование биофармацевтических аспектов в технологии получения лекарственных средств, их дизайн и изучение факторов, влияющих на биодоступность.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГОУ ВПО Казанский ГМУ Росздрава (№ гос. регистрации 0120.0805878), а также в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009 – 2013 годы» (Государственный контракт № 02.740.11.0775), руководитель – проф. Семина И.И., научный руководитель – доц. Мустафин Р.И.; гранта РФФИ № 13-04-01377 (руководитель – доц. Мустафин Р.И., 2013 –2015 гг.), гранта РНФ № 14-15-01059 (руководитель – доц. Мустафин Р.И., 2014 – 2016 гг.). Диссертационное исследование является частью проекта ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, признанного победителем общероссийского научно-практического мероприятия «Эстафета Вузовской науки 2017» (платформа «Фармакология») в рамках Международного медицинского форума «Вузовская наука. Инновации» (руководитель – доц. Мустафин Р.И.). Кроме того, данная работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава России, № гос. регистрации АААА-А18-11812279093-5 (руководитель – доц. Мустафин Р.И.), выполняемого на базе ЦНИЛ ФГБОУ ВО Казанского ГМУ.

Публикации материалов исследования.

По теме диссертации опубликовано 19 печатных работ, из них 8 – в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, из которых 4 – в зарубежных журналах, а также 1 глава в монографии и 1 Патент РФ.

Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа состоит из введения, шести глав и выводов, изложенных на 165 страницах компьютерно-набранного текста, содержит 27 таблиц, 63 рисунка. Список литературы включает 203 источника, в том числе 142 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. Обзор литературы

1.1. Микро- и наноразмерные системы доставки активных фармацевтических ингредиентов

Использование в фармацевтической технологии систем контролируемой доставки ЛВ может обеспечить преодоление некоторых проблем традиционной терапии и повысить терапевтическую эффективность лекарственных средств. Известно, что для достижения максимальной терапевтической эффективности, активная молекула должна быть доставлена в ткань-мишень в оптимальном количестве и в нужный период времени, что снизит токсичность и вызовет минимальные побочные эффекты. Существуют различные подходы к доставке ЛВ в область их оптимальной абсорбции. Одним из таких подходов является использование микросистем как носителей лекарственных веществ [196]. Микроразмерные системы способны равномерно распределяется по всему желудочно-кишечному тракту, что потенциально улучшает поглощение лекарственного вещества и уменьшает число побочных эффектов вследствие нелокализованного действия лекарственного вещества на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта [177]. Таким образом, пероральное контролируемое высвобождение лекарственного вещества из «множественной» лекарственной формы (пеллеты, гранулы, микрочастицы, микрокапсулы) имеет преимущество по сравнению с «единичными» лекарственными формами (капсулами или таблетками) [69].

Наноразмерные системы доставки лекарств представляют собой твердые коллоидные частицы, которые могут быть получены методами полимеризации и синтеза из исходных полимеров [97,195]. Одной из основных характеристик наночастиц является их размер, который составляет 5-10 нм с верхним пределом в 1000 нм, однако обычно диапазон получаемых наночастиц составляет 100-500 нм [171]. Наноразмерные системы доставки лекарств обладают следующими преимуществами: позволяют осуществлять направленную доставку лекарств в патологический очаг [65, 88]; благодаря их субклеточному размеру обеспечивают высокое внутриклеточное поглощение активного компонента по

сравнению с другими системами доставки лекарств [101, 102]; повышают стабильность активных веществ, включенных в их состав [164]; могут быть биосовместимыми с клетками и тканями, а также обладать биodeградируемыми свойствами, в случае их получения из биосовместимых материалов [110].

Одним из активно развивающихся направлений в области применения микро- и наноразмерных систем доставки ЛВ является создание инкапсулированных лекарственных форм.

1.2. Инкапсулированные системы доставки лекарственных веществ

Инкапсулирование биологически активных веществ является перспективным направлением фармацевтической технологии [26]. Микрокапсулы (МК) – капсулы, состоящие из однослойной или многослойной оболочки на основе полимерного или другого материала, шарообразной или неправильной формы, размером от 1 до 2000 мкм, содержащей твердые или жидкие активные действующие вещества с добавлением или без добавления вспомогательных веществ [44]. Чаще всего применяют микрокапсулы размером от 100 до 500 мкм. В качестве материалов для оболочек, имеющих хорошую адгезию к инкапсулируемому веществу, обеспечивающих герметичность, эластичность, прочность, определенную проницаемость, и стабильность при хранении, используют различные полимеры как природного, так и синтетического происхождения [45, 46, 59].

Особый интерес представляют оболочки на основе рН-чувствительных полимеров, которые могут быть использованы в технологии получения микрокапсул, высвобождающих лекарственное вещество в определенном отделе желудочно-кишечного тракта. В качестве материала подобной оболочки могут быть использованы и интерполиэлектrolитные комплексы (ИПЭК), представляющие собой продукты взаимодействия химически комплементарных полианионов и поликатионов. При этом в качестве участников ИПЭК, могут быть использованы и сополимеры акриловой и метакриловой кислот, особое

место среди которых занимают сополимеры под общим торговым названием Eudragit® [34, 35, 37, 40, 42, 58, 154, 155, 157].

С помощью микрокапсулирования можно решать актуальные в фармацевтической технологии задачи, такие как:

1. снижение реакционной способности лекарственного вещества [51];
2. защита от агрессивных факторов внешней среды – свет, влага, температура [26, 51];
3. увеличение сроков годности лабильных и быстро портящихся лекарственных веществ [26];
4. снижение токсичности лекарственных субстанций, и раздражающего действие на ткани, связанного с прилипанием таблеток к стенкам желудка, в особенности нестероидных противовоспалительных средств, например индометацина [26, 91, 92];
5. маскировка неприятного вкуса и запаха лекарственного вещества [26, 51, 60];
6. превращение газов и жидкостей в псевдотвердое тело [51];
7. обеспечение пролонгированного действия лекарственных препаратов [26, 51, 60];
8. преодоление физико-химической несовместимости в многокомпонентных лекарственных препаратах [26, 51];
9. увеличение сроков хранения лекарственных препаратов (витамины, антибиотики, вакцины, сыворотки, ферменты) [60, 91];
10. модифицированное высвобождение лекарственных веществ из пероральных, буккальных, назальных и парантеральных лекарственных форм [26];
11. иммобилизация пробиотиков и живых клеток [10, 87, 182].

Не смотря на очевидную перспективу микрокапсулирования фармацевтических препаратов, на практике инкапсуляция применяется лишь для ограниченной группы лекарственных препаратов (таблица 1).

Таблица 1 - Примеры применения инкапсулирования в технологии лекарственных форм [27, 196].

Инкапсулируемый объект	Свойства	Цель инкапсулирования	Лекарственная форма
Парацетамол	Мало растворим в воде	Маскировка вкуса	Таблетки
Ацетилсалициловая кислота	Мало растворим в воде	Маскировка вкуса, замедленное высвобождение, уменьшение раздражающего действия на желудок, совмещение с несовместимыми субстанциями	Таблетки или капсулы
Изосорбида динитрат	Растворим в воде	Замедленное высвобождение	Капсулы
Ментол	Летучий	Уменьшение летучести, замедленное высвобождение	Лосьон
Островки Лангерганса	Живые клетки	Длительное противодиабетическое действие	Иньекции
Прогестерон	Плохо растворим в воде	Замедленное высвобождение	Таблетки или капсулы
Калия хлорид	Очень легко растворим в воде	Уменьшение раздражающего действия на желудок	Капсулы
Нифедипин	Практически нерастворим в воде	Защита от света	Порошок
Витамин А	Нелетучая жидкость	Защита от окисления	Порошок

Особый интерес представляет инкапсулирование пептидов или белков, обладающих высокой активностью в малых дозах, с целью их защиты от внешних факторов окружающей среды [91, 94, 165].

Известны работы по снижению негативного влияния на организм новокаинамида, ацетилсалициловой кислоты, кетопрофена и других лекарственных средств путем их инкапсулирования [167, 177].

В литературе описана микрокапсулированная форма тетурама, которая обеспечивает стабильное высвобождение лекарственного вещества и пролонгированный терапевтический эффект [49]. Кроме того в современной фармацевтической практике при лечении ишемической болезни сердца, стенокардии, а так же сердечной недостаточности широко применяются пролонгированные микрокапсулированные лекарственные формы нитроглицерина [47, 52].

В литературе можно найти примеры корригирования неприятного вкуса детского сиропа с метронидазолом, а так же коррекции горького вкуса лекарственных форм ибупрофена с парацетамолом путем их инкапсулирования [1, 51, 169].

Микрокапсулирование широко применяется как технология иммобилизации пробиотиков. Применение данной технологии позволяет существенно повысить терапевтический эффект лекарственных препаратов пробиотиков при их пероральном применении, благодаря защите пробиотических культур от агрессивных факторов желудочно-кишечного тракта [10, 87, 182].

Следует отметить, что помимо микрокапсулирования в настоящее время особый акцент делается на создание наноразмерных лекарственных форм, к которым относятся нанокапсулы [14, 15]. Нанокапсулы представляют собой везикулярную систему, размером менее 1 мкм, в которой лекарственное средство заключено в полости, состоящей из жидкого ядра (жидкость или полимерная матрица), окруженного полимерной оболочкой [59, 171]. Ядро может быть липофильным или гидрофильным в соответствии со способом получения и используемыми материалами. Лекарственное вещество может быть включено в ядро, в жидкой или твердой форме, либо в виде молекулярной дисперсии. Кроме того, нанокапсулы могут нести активное вещество на их поверхности или в самой полимерной оболочке [98, 123, 174, 193]. Перспективным является использование нанокапсул для доставки высокотоксичных лекарственных

веществ внутрь опухолевых клеток при минимальном проявлении общего токсического действия [11, 85].

Перспективным является использование нанокапсулирования для создания противотуберкулезных, антибактериальных, а так же антигипертензивных лекарственных препаратов. Так, разработаны методики инкапсулирования рифампицина, изониазида, пиразинамида, гатифлоксацина, эналаприла [4, 43, 54, 62, 175].

1.3. Методы получения микро- и наноразмерных систем доставки лекарств

Получение микро- и наночастиц достигается с помощью химических и механических процессов. Выбор процесса зависит от природы полимера, конечного размера частиц, физико-химических свойств лекарственного вещества, в особенности от его растворимости в полимере. Основные способы получения микрочастиц приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Методы получения микроразмерных систем доставки ЛВ [68].

Химические методы	Механические методы
Разделение фаз или коацервация	Распылительная сушка
Полимеризация	Распылительные с последующим охлаждением
Термическая желатинизация	Напыление в псевдооживленном слое
Экстракция растворителя Упаривание растворителя	Дражирование
	Центрифугационная экструзия
	Электростатическое покрытие

Однако большинство методов микрокапсулирования основаны на модификации трех основных методов: экстракция/упаривание растворителя, разделение фаз (коацервация) и распылительная сушка. Для каждого метода, выделяют следующие основные стадии [100, 194]:

- 1) «захват» активных соединений;
- 2) образование капель;
- 3) удаление растворителя;
- 4) сбор и сушка микрочастиц.

Активные соединения могут быть добавлены к материалу матрицы / покрытия (первая стадия) путем совместного растворения в общем растворителе, диспергирования или эмульгирования в нем [115]. Стадия образования капель является фундаментальной, поскольку она определяет размер и распределение по размерам полученных микрочастиц, что, в свою очередь, влияет на скорость высвобождения и эффективность инкапсуляции лекарственного вещества. Основными способами получения капель являются: перемешивание, статическое перемешивание, экструзия и распыление.

При перемешивании скорость вращения мешалки является основным параметром, влияющим на размер капель лекарственной / матричной дисперсии в непрерывной фазе: чем выше скорость перемешивания, тем меньше размер капель [74, 103, 162, 201]. Кроме того размер капель зависит от вязкости диспергируемой фазы и дисперсионной среды, межфазного натяжения между двумя фазами, их объемным соотношением, формой и количеством мешалок, а также соотношение размеров между мешалкой и реактором [69, 73, 82, 133, 143, 147, 178, 183].

Статическое перемешивание заключается в использовании перегородок или других препятствий для потока, установленных в трубопроводе. Устройство перегородок разделяет и рекомбинирует поток жидкости, проходящей через трубопровод, создавая турбулентность и индуцируя обратное смешение.

Другим механизмом образования капель является экструзия, принцип действия которой состоит в подаче диспергируемой фазы через один или множество каналов в дисперсионную среду. Капли дисперсии образуются в медленно протекающей дисперсионной среде, которая также обеспечивает транспортировку капель от места их формирования. Существуют некоторые различия между экструзией и статическим перемешиванием. При экструзии поток в основном ламинарный и капли образуются непосредственно на месте введения диспергируемой фазы в дисперсионную среду, после чего они практически не меняются в размере. Напротив, статическое перемешивание зависит главным образом от турбулентного потока, который действует на

диспергируемую фазу и, следовательно, приводит к изменению размера капель по всей длине смесителя. Поэтому экструзия дает более равномерное и контролируемое распределение размеров микрочастиц, чем статическое перемешивание [100]. Экструзия может быть проведена в системах с одним каналом при непрерывной подаче дисперсии лекарственного вещества / матрицы в поток непрерывной фазы [66] или в многоканальных системах, то есть микромиксерах, состоящих из массива тонких каналов или микропористых мембран.

Метод распыления сочетает в себе высокую производительность и однородное распределение микрочастиц по размерам. Он заключается в вибрации струи жидкости, с последующим ее разрушением на капельки: продольные колебания, налагаемые на поток жидкости, вызывает периодические поверхностное напряжение, которое разрушает жидкость на однородные капли [139].

Следующей стадией, которая следует после образования капель - это удаление растворителя из дисперсной фазы, осуществляемое обычно путем выпаривания или экстракции [67]. Метод выпаривания растворителя широко используется из-за его простоты [73, 86, 176]. Упаривание может быть вызвано повышением температуры или уменьшением давления. При этом температура должна быть не слишком высокой, чтобы избежать разложения лекарственного вещества; поэтому применение пониженного давления более распространено [135]. При экстракции растворителя количество и состав непрерывной фазы выбирают так, чтобы значительно разбавить дисперсную фазу, что требует большого количества жидкости и ее последующей переработки [191].

Последними стадиями получения микрокапсул являются их сбор, промывка и сушка. Отделение затвердевших микрокапсул от непрерывной фазы обычно проводят либо фильтрованием, либо центрифугированием. Затем проводится промывка для удаления стабилизатора или не инкапсулированного препарата. Для удаления остаточного количества органического растворителя в микрочастицах на стадии промывки могут быть использованы высокие

температуры или экстрагирующие агенты [190]. Наконец, микрокапсулы сушат либо с использованием традиционных методов сушки, либо сушки под вакуумом или с использованием методов лиофилизации.

Рассмотрим наиболее часто применяемые методы получения микро- и наноразмерных систем доставки лекарственных веществ.

Нанопреципитация (наноосаждение)

Метод нанопреципитации также называют методом смены фаз. Для получения микрокапсул методом нанопреципитации необходимо иметь фазу растворителя и фазу осадителя. Фаза растворителя представляет собой раствор пленкообразующего вещества (полимера синтетического, полусинтетического или природного происхождения), активного вещества, липофильной основы, липофильного ПАВ и при необходимости раствора активного вещества или липофильной основы, в растворителе или в смеси растворителей (этанол, ацетон, гексан, хлористый метилен, диоксан). Фаза осадителя состоит из смеси не являющейся растворителем для пленкообразующего вещества, в составе которой имеется природное или синтетическое поверхностно-активное вещество. Фаза растворителя и фаза осадителя называются соответственно органической и водной фазами. Типичный состав применяемый для получения микрокапсул размером 150-200 нм методом нанопреципитации представлен в таблице 3.

Таблица 3 - Предлагаемый состав для получения микрокапсул методом нанопреципитации [148].

Компоненты	Предлагаемый состав
Активное вещество	0,01-0,03 %
Полимер	0,2-0,5% от объема растворителя
Масло	1,0-5,0 % от объема растворителя
ПАВ типа м/в	0,2-0,5 % от объема растворителя
Растворитель	30-35 %
Стабилизатор	0,2-0,5 % от объема осадителя
Осадитель	65-70 %

В качестве полимеров, образующих оболочку, в основном используют поли-ε-капролактон, полилактиды и полилактид-со-гликолиды, полиакрилаты (в том числе полимеры торговой марки Eudragit®), полицианокрилаты, сополимеры

молочной и гликолевой кислот [123, 138]. Растворителями для перечисленных полимеров служат – дихлорметан, хлороформ или менее токсичные этилацетат и этилформиат [73].

В качестве липофильной основы часто используются различные типы капроновых и каприловых триглицеридов, в виду возможности растворения в них широкого диапазона активных веществ. Также в качестве липофильной основы могут быть использованы бензилбензоат, бензиловый спирт, олеиновая кислота, этилолеат, аргановое масло, подсолнечное масло и соевое масло. В роли ПАВ типа вода/масло предпочтительнее выбирать сорбитановые эфиры и фосфолипиды. Что касается растворителя, то во всех случаях выбирают ацетон. Другие растворители, такие как этанол, используют для растворения активного вещества или липофильной основы. В качестве осадителя используют водные или буферные растворы, в то время как стабилизирующим агентом является полксамер 188 или полисорбат 80 [148].

В методе нанопреципитации нанокапсулы получают в виде коллоидной суспензии, образующейся при добавлении органической фазы к водной фазе при перемешивании. После образования наночастиц, растворитель удаляют под вакуумом.

Основными параметрами процесса получения нанокапсул методом нанопреципитации являются скорость и способ добавления органической фазы, скорость перемешивания, соотношение органической и водной фаз, а также природа и концентрация исходных компонентов [83,134,138]. Процесс наноосаждения является простым и переносимым в промышленном масштабе. Недостатком метода является то, что он применим только для инкапсуляции гидрофобных лекарственных веществ, которые хорошо растворимы в полярных растворителях.

Так, методом наноосаждения (нанопреципитации) отечественными учеными впервые изучены технологические параметры процесса получения наносомальной лекарственной формы спарфлоксацина. Показана высокая антибактериальная активность наночастиц с спарфлоксацином в отношении

микобактерий туберкулеза как лабораторных, так и клинических штаммов [6]. Следует отметить, что метод нанопреципитации постоянно совершенствуется, проводятся исследования по получению нанокапсул с гидрофильными лекарственными веществами. Так получены наночастицы размером от 130 до 560 нм с использованием в качестве растворителя диметилсульфоксида, а в качестве осадителя метанол или этанол [76].

Коацервация

Одним из первых методов получения микрокапсул является коацервация или фазовое разделение. Данный метод заключается в образовании в растворе капель высокомолекулярных соединений (коацерватов) под влиянием изменения температуры, рН или ионной силы раствора, которые, осаждаясь на диспергированном в растворе лекарственном веществе, формируют затвердевающую в последствии оболочку [116]. Данным методом получены микрокапсулированные лекарственные формы салицилата натрия, гепарина, нифидипина, фенитоина натрия, кетопрофена [118, 145, 167, 188, 202].

Одним из вариантов коацервации также является ионное гелеобразование, с помощью которого могут быть получены микрочастицы или наночастицы из гидрофильных ионогенных полимеров, таких как альгинат или хитозан [131], оно не требует специального оборудования и может выполняться при комнатной температуре [160].

Ионное гелеобразование часто сопровождается дальнейшим образованием комплекса полиэлектролита с противоположно заряженным полиэлектролитом, таким как полилизин или хитозан. Этот комплекс образует мембрану из полиэлектролитов на поверхности частиц геля, что увеличивает их механическую прочность. Такие наночастицы используют для инкапсуляции и внутриклеточной доставки белков, пептидов и олигонуклеотидов [23,63].

Эмульгирование по типу вода/масло

Эмульгирование по типу вода/масло было описано в 1972 г., и это была первая процедура для получения микросфер и наносфер медицинского применения на основе альбумина [179]. Этот метод используется для

инкапсулирования гидрофильных лекарственных веществ. Водный раствор альбумина эмульгируют при комнатной температуре в растительном масле и гомогенизируют под высоким давлением [130], либо ультразвуком [149]. В результате образуется эмульсия вода/масло, которая затем по каплям при перемешивании добавляется в большой объем предварительно разогретого масла ($>120^{\circ}\text{C}$). Это приводит к немедленному выпариванию воды, содержащейся в капельках эмульсии, с необратимой денатурацией альбумина, который коагулирует в форме твердых наночастиц. Затем дисперсию охлаждают и несколько раз промывают большим количеством органического растворителя (например, эфир, этанол, ацетон) для полного удаления масла. Следует отметить, что стадия упрочнения частиц путем термической денатурации, не пригодна для термочувствительных препаратов. Чтобы избежать этого, процесс видоизменяют, используя вместо температуры сшивающий агент - 2,3-бутандион или формальдегид [63].

Эмульсионно-диффузионный метод

Метод эмульсионной диффузии позволяет проводить получение нанокапсул как с липофильными, так и с гидрофильными лекарственными веществами [170, 192]. Для проведения технологического процесса получения нанокапсул данным методом требуется три фазы: органическая, водная и фаза разведения. Когда целью процесса является инкапсулирование липофильного активного вещества, органическая фаза должна содержать полимер, активное вещество, липофильную основу и органический растворитель, частично смешивающийся с водой. При этом органическая фаза служит растворителем для всех ее компонентов. Водная фаза включает в себя водную дисперсию стабилизатора, а фазой разбавления служит вода.

Материалами при получении оболочки нанокапсул методом эмульсионной диффузии обычно являются биоразлагаемые сложные полиэферы, в особенности поли-(ϵ -капролактон), полилактиды и производные полиметакриловой кислоты, в частности торговой марки «Eudragit®», а также поли-(гидроксibuтират-со-гидроксивалерат). Внутренняя фаза содержит липофильную основу, активное

вещество и растворитель. В качестве липофильной основы, как и в методе нанопреципитации, также используют капроновые/каприловые триглицериды. В качестве растворителей используют этилацетат (который является растворителем «первого выбора»), также могут быть использованы карбонат пропиленгликоля, бензиловый спирт и дихлорметан. Растворителем внешней фазы является вода, а в качестве стабилизирующего агента чаще всего выступает поливиниловый спирт (ПВС). Также в качестве стабилизаторов могут быть использованы поллоксамеры и ионные эмульгаторы. Фаза разбавления часто представляет собой воду; однако, с целью получения более однородной и стабильной нанодисперсии в качестве фазы разбавления может быть использован разбавленный водный раствор стабилизатора.

Для получения нанокапсул с помощью метода эмульсионной диффузии, органическую фазу эмульгируют при энергичном перемешивании в водной фазе. Последующее добавление воды к полученной эмульсии вызывает диффузию растворителя во внешнюю фазу, что приводит к образованию нанокапсул. Растворитель может быть также удален путем перегонки или фильтрацией под вакуумом в зависимости от температуры кипения растворителя. Было доказано, что размер нанокапсул зависит от скорости эмульгирования, состава органической фазы, концентрации полимера, соотношения масло-полимер и размера капель первичной эмульсии. Если стабилизатор присутствует во время процесса диффузии и его протективный эффект является достаточным, то нанокапсулы будут сформированы после полной диффузии растворителя. Метод подходит для гидрофобных препаратов, таких как эстроген, эналаприлат и ибупрофен [1, 104, 132].

В литературе описан вариант данного метода, адаптированный для инкапсуляции гидрофильных активных веществ [142, 168]. В этом методе стабилизирующий агент - поливиниловый спирт (ПВС) или поливинилпирролидон (ПВП), присутствует в водной внутренней фазе вместе с активным веществом, в то время как внешняя фаза состоит из полимера и органического растворителя (метилхлорид или ацетон). Разбавление эмульсии

производится сначала добавлением растворителя (этанол), который приводит к миграции органического растворителя. Затем добавляется вода для облегчения формирования частиц. Водная фаза разбавления может включать или не включать стабилизатор. Преимущества метода - использование низко-токсичных растворителей и высокая воспроизводимость и эффективность инкапсулирования (обычно более 70%). Недостаток метода - это большой объем воды, который необходим для проведения стадии разбавления.

Метод двойного эмульгирования

Двойные эмульсии представляют собой сложные гетеродисперсные системы, называемые «эмульсия в эмульсии», которые можно разделить на два основных типа: эмульсия вода-масло-вода (в/м/в) и эмульсия масло-вода-масло (м/в/м) [106, 109]. Таким образом, дисперсная фаза представляет собой эмульсию с диспергированной в ней внутренней эмульсией, отделенной от внешней жидкой фазы слоем другой фазы. Процесс получения двойных эмульсий происходит в два этапа с использованием двух поверхностно-активных веществ: гидрофобного, предназначенного для стабилизации поверхности внутренней эмульсии в/м, и гидрофильного, стабилизирующего поверхность внешней масляных глобул эмульсии в/м/в [148].

Процесс инкапсулирования методом двойного эмульгирования основан на механизмах получения нанокапсул методами осаждения и эмульсионной диффузии и применяется для инкапсулирования гидрофильных лекарственных веществ [84, 129]. В составе первичной эмульсии в/м липофильная основа отсутствует, а органическая фаза, содержит растворитель способный полностью или частично смешивается с водой, пленкообразующий полимер и поверхностно-активное вещество типа в/м. Затем к системе добавляется вода, содержащая стабилизирующий агент для получения эмульсии «вода в органической фазе в воде». Типичный состав для приготовления нанокапсул методом двойного эмульгирования в лабораторном масштабе методом двойной эмульгирования (размер около 150-200 нм) приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Предлагаемый состав для получения нанокапсул методом двойного эмульгирования [148].

Компоненты	Предлагаемый состав
<i>Внутренняя водная фаза</i>	
Активное вещество	0,0005-0,025 %
Вода	0,15-0,5 %
<i>Органическая фаза</i>	
Полимер	5-10 % от объема органической фазы
ПАВ типа в/м	5-7 % от объема органической фазы
Растворитель	1,5-5 %
<i>Внешняя водная фаза</i>	
Стабилизатор	1-5 % от объема внешней водной фазы
Вода	2-5 %
<i>Фаза разбавления</i>	
Стабилизатор	1-5 % от объема фазы разбавления
Вода	50-100 %

Чаще всего в состав внутренней водной фазы включают только активное вещество и воду. В состав органической фазы в качестве растворителей могут быть включены этилацетат, метилхлорид и дихлорметан. В качестве полимеров используют биоразлагаемые сложные полиэфиры, такие как поликапролактон, полилактиды и поли(лактид-со-гликолид). В качестве поверхностно-активного вещества типа в/м предпочтение отдается сорбитановым эфирам. Во внешней водной фазе, в качестве стабилизаторов используют поливиниловый спирт и полисорбаты. Фазой разбавления служит водный раствор аналогичный по составу внешней водной фазе [84].

В типичном процессе получения нанокапсул методом двойного эмульгирования первичная эмульсия образуется под действием ультразвука и поверхностно-активного вещества типа в/м, стабилизирующего поверхность внутренней эмульсии типа в/м. Вторая эмульсия также образуется под действием ультразвука, а полученная дисперсия нанокапсул стабилизируется действием стабилизирующего агента. Во время проведения этой стадии происходит затвердевание частиц за счет осаждения полимера и диффузии растворителя [77,123]. Наконец, растворители удаляют упариванием под вакуумом, оставляя затвердевшие нанокапсулы. Часто для достижения полной диффузии

растворителя к двойной эмульсии добавляется избыточный объем воды, либо проводят стадию упаривания растворителя под вакуумом. В качестве примеров применения метода двойного эмульгирования можно привести технологию получения микрокапсул сульфадиазина на основе ацетатбутиратцеллюлозы, а также кишечнорастворимых микрокапсул на основе полиметилметакриловой кислоты с α -токоферолом, тамоксифеном и будесонидом [70, 127].

Метод эмульгирования с последующим упариванием

Метод упаривания растворителя один из самых старых методов получения наночастиц, который был предложен в 1981 г. [111]. Данный метод заключается в следующем: гидрофобный полимер и лекарственное вещество растворяют в органическом растворителе, который является летучим и не смешивается с водой (например, этилацетат, хлороформ, метиленхлорид). Этот раствор затем эмульгируют в водном растворе стабилизатора (ПВС, полуксамер). Эмульгирование проводят ультразвуком или в условиях высокоэнергетической гомогенизации, чтобы уменьшить размер образующихся эмульсионных капель, образующейся эмульсии типа масло/вода. Затем органический растворитель удаляют упариванием при комнатной температуре при перемешивании или при пониженном давлении, что приводит к осаждению полимера и образованию наночастиц. Этим методом получают наночастицы с высокой инкапсуляционной эффективностью, однако этот метод не применим для гидрофильных лекарственных веществ, также его недостатками являются высокие энергетические затраты при гомогенизации и использование токсичных органических растворителей. Таким способом получены микрокапсулы бупренорфина, пентамидина, каптоприла, дилтиазема, метопролола, амоксициллином и эноксацина [120, 127, 128, 144, 146, 200].

Следует отметить, что применение методов эмульгирования в значительной степени ограничено недостатками, такими как работа с токсичными растворителями (дихлорметан, хлороформ) и высокими энергетическими затратами. Напротив, методы спонтанного образования наночастиц не требуют источника внешней энергии или органического

растворители, за исключением наноосаждения. Многие из описанных методов являются дорогостоящими, их трудно масштабировать и они обладают узким диапазоном применимости [107]. Первые разработанные процессы микрокапсулирования, освоенные в промышленном масштабе, были механическими: распылительная сушка и метод дражирования. На сегодняшний день в промышленности применяются различные способы микрокапсулирования, примеры которых приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Способы микрокапсулирования, применяемые в фармацевтической промышленности [198].

Международное непатентованное наименование	Торговое наименование	Производитель	Форма выпуска	Способ получения
Октреотида ацетат	Sandostatin LAR [®] Depot	Novartis	Порошок для приготовления суспензии для внутримышечного введения пролонгированного действия	Коацервация
Леупролида ацетат	LUPRON DEPOT [®]	AbbVie		Эмульгирование по типу В/М/В с последующим упариванием растворителя
Налтрексон	Вивитрол [®]	Johnson & Johnson		Эмульгирование по типу М/В с последующей экстракцией растворителя
Рisperидон	RISPERDAL CONSTA [®]	Janssen Pharmaceuticals		Эмульгирование по типу М/В с последующей экстракцией растворителя
Бромокриптин [®]	Парлодел LA	Novartis		Распылительная сушка
Миноциклинагидрохлорид	Arestin [®]	Valeant Pharmaceuticals	Микросферы для субгингивального применения	Коацервация

В таблице 6 приведен сравнительный анализ наиболее часто применяющихся методов микрокапсулирования с возможностью переноса технологии на фармацевтическое производство [196].

Таблица 6 – Сравнительный анализ методов микрокапсулирования с возможностью переноса технологии на фармацевтическое производство.

Метод	Размер частиц, мкм	Возможный масштаб	Воспроизводимость процесса	Время тех. процесса
Нанесение покрытия в псевдооживленном слое	35-5000	Завод	Умеренная	Длительное
Коацервация и разделение фаз	2-5000	Лаборатория	Хорошая	Малое
Центрифугирование	1-5000	Завод	Умеренная	Длительное
Дражирование	600-5000	Завод	Умеренная	Длительное
Упаривание растворителя	5-5000	Лаборатория	Хорошая	Малое
Распылительная сушка	5-600	Завод	Умеренная	Длительное

Несмотря на хорошую эффективность инкапсулирования вышеупомянутых методов, они имеют ряд недостатков, таких как использование большого количества растворителей, возможность разрушения лекарственного вещества, длительность и трудоемкость процесса, а, следовательно, и высокие энергетические затраты. Кроме того, во всех случаях требуется высококвалифицированный обученный персонал и дорогостоящее технологическое оборудование.

Таким образом, поиск простой и эффективной технологии получения микрокапсул с высокой производительностью является актуальной проблемой на сегодняшний день. Такой технологией на наш взгляд может стать ультразвуковое распыление с последующим ионным гелеобразованием и комплексообразованием. Процесс ионного гелеобразования в отличие от перечисленных методик проводится при низких температурах и без

использования органических растворителей. При этом альгинаты в присутствии двухвалентных или многовалентных ионов металлов могут образовывать гели со структурой "яичной коробки", в которую могут быть введены лекарственные вещества, а ее биоадгезивные свойства способствуют транспорту лекарственного вещества в клетки слизистых оболочек, например, желудочно-кишечного тракта. Данная технология весьма перспективна в виду своей простоты, низких энергетических затрат и высокой производительности [93]. Так были получены микросферы с сывороточным альбумином с использованием ультразвукового распылителя, установленного на лабораторной распылительной сушилке, в потоке воздуха-носителя [78].

Ультразвуковое распыление было использовано в работе по инкапсуляции синтетической формы гликопротеинового гормона с помощью двух различных процессов: распылительной сушки с последующим замораживанием и обычной распылительной сушки. Ультразвуковые сопла, используемые для данных процессов, позволили получить капли размером около 60 мкм. Эффективность инкапсулирования в данной работе составила около 100% [80].

В литературе [108] описан процесс инкапсулирования индометацина в полилактидгликолевую кислоту (ПЛГА) с помощью коаксиального ультразвукового распылителя, состоящего из внутреннего и наружного канала. Во внутренний канал подается раствор, содержащий индометацин и ПЛГА в дихлорметане, а через внешний канал подается раствор ПЛГА в дихлорметане. Далее удаляли растворитель упариванием. Затем частицы центрифугировали, промывали и лиофильно высушивали. Результаты показали, что наличие наружной полимерной оболочки приводит к увеличению эффективности инкапсуляции и предотвращению потерь препарата во время выпаривание растворителя.

Показана возможность применения данного метода для инкапсуляции гидрофильного 5-фторурацила. При этом раствор, образующий оболочку (альгинат натрия) и раствор, образующий ядро (альгинат натрия, 5-фторурацил и плюроник F127) одновременно распыляли в комплексобразующий раствор на

основе эмульсии водного раствора хлорида кальция в дихлорметане. Далее полученные микрочастицы были перенесены во второй комплексообразующий раствор для придания им необходимой гастрорезистентности. В качестве второго комплексообразующего раствора был выбран раствор поликатиона Eudragit RS 100 в дихлорметане [90].

Также одним из современных и перспективных направлений в получении микро- и наноразмерных систем доставки лекарственных веществ является использование интерполимерного взаимодействия.

1.4. Применение интерполимерного взаимодействия при создании микро- и наноразмерных систем доставки активных фармацевтических ингредиентов.

Многие научные группы в настоящее время используют принцип образования ИПЭК при создании микро- и нано- сфер, гранул и капсул [75, 87, 92, 99, 113, 136, 181, 187, 197, 199].

Создание микроразмерных систем доставки ЛВ в толстый отдел кишечника является одним из активно исследуемых направлений. Так разработана технология получения микрокапсул с 5-фторурацилом с оболочкой на основе ИПЭК, образованного хитозаном и ацетатфталатом целлюлозы [187]. В работе удалось достичь замедленного высвобождения 5-ФУ, в течение 12 часов высвободилось порядка 70-80% ЛВ, что характеризует систему с контролируемым высвобождением. Кроме того в работе [181] авторы приводят исследования микрокапсул с 5-фторурацилом, полученных путем ионного гелеобразования смеси альгинат натрия/хитозан в растворе хлорида кальция. В работе показаны довольно перспективные результаты высвобождения ЛВ.

Одним из перспективных методов, применяемых при получении микроразмерных полимерных носителей для контролируемой доставки лекарственных веществ, является так называемая технология «layer-by-layer» -

послойная абсорбция полимеров с использованием принципа межмакромолекулярного взаимодействия [3, 5, 23, 50, 64, 124, 197, 199].

Использование линейных полиэлектролитов для получения поликомплексных носителей ЛВ создает возможность конструирования не только микроразмерных носителей, но также известен целый ряд работ по разработке технологий получения наночастиц на основе химически комплементарных полимеров. Так в работе [166] была исследована возможность применения наночастиц на основе интерполиэлектролитных комплексов, состоящих из двух противоположно заряженных полиметакрилатов (Eudragit®L100 и Eudragit®ЕРО) с модельными лекарственными веществами – ателолол, пропранолол и метоклопрамид, как носителей с контролируемой доставкой.

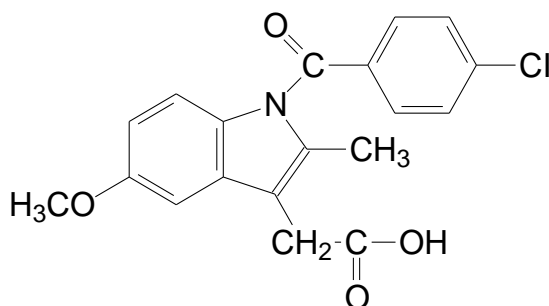
Заключение по обзору литературы

Инкапсулированные лекарственные формы обладают целым рядом достоинств и преимуществ по сравнению с традиционными формами лекарственных препаратов, а разработка способа инкапсулирования, позволяющего производить микро- и наноразмерные лекарственные формы в промышленном масштабе, становится актуальной задачей на сегодняшний день. При этом в подобной технологии могут быть использованы интерполимерное, полимер-лекарственное и интерполиэлектролит-лекарственное взаимодействия.

ГЛАВА 2. Объекты и методы исследования

2.1. Объекты исследования

2.1.1. Индометацин



1-(4-Хлорбензоил)-5-метокси-2-метил-1Н-индол-3-уксусная кислота.

М.м.= 357, 79 г/моль.

CAS №. 53-86-1, «Sigma Aldrich SRL».

Описание. Белый или слегка желтоватый порошок без запаха или почти без запаха.

Растворимость. Практически нерастворим в воде. Умеренно растворим в этаноле, хлороформе, эфире. Растворим в растворах щелочей.

Температура плавления - 160,5°C.

Подлинность. Необходимо отметить, что для молекулы индометацина характерен полиморфизм. Так, индометацин может существовать в кристаллическом и аморфном состоянии. Так же следует отметить, что аморфная форма по сравнению с кристаллическими формами индометацина обладает большей растворимостью в воде, следовательно, и большей биодоступностью [137]. Таким образом, особый интерес представляет включение в состав ИПЭЛК именно аморфной формы индометацина.

Выделяют две кристаллические формы индометацина: α-форма и γ-форма. Отличие α-формы от γ-формы заключается в характере водородных связей между молекулами индометацина. Так молекулы индометацина γ-формы образуют димеры за счет двух водородных связей между остатками уксусной кислоты (рисунок 1).

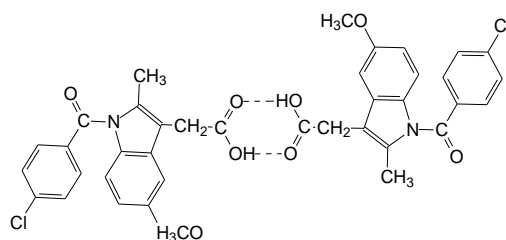


Рисунок 1 - γ -форма индометацина.

В то время как молекулы α -формы индометацина образованы за счет трех водородных связей: двумя между остатками уксусной кислоты и одной между остатком уксусной кислоты и бензольным карбонилем (рисунок 2).

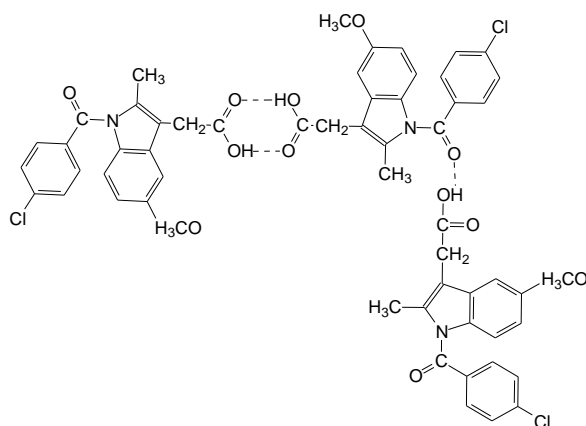


Рисунок 2 - α -форма индометацина [185].

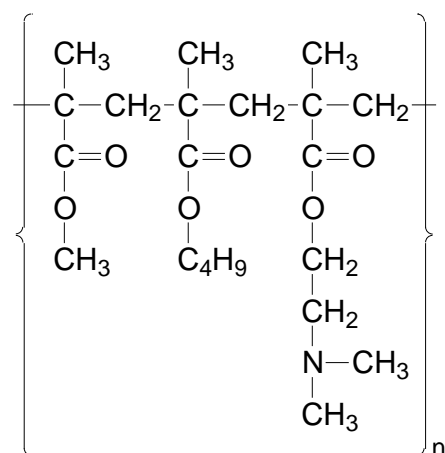
Исходя из данных литературы отличить две данные формы индометацина можно с помощью метода ИК-спектроскопии. Так ИК-спектр α -формы индометацина характеризуется наличием интенсивных характеристических полос карбонильных групп при 1733 см^{-1} , 1688 см^{-1} , 1681 см^{-1} , 1649 см^{-1} , в то время как для γ -формы характерны полосы карбонильных групп при 1717 см^{-1} и 1698 см^{-1} . Полоса на 1717 см^{-1} соответствует карбонильной группе остатка уксусной кислоты, а полоса на 1698 см^{-1} соответствует валентным колебаниям «амид I» амидной группы. Водородная связь между карбонилем амидной группы и остатком уксусной кислоты в молекуле α -формы приводит к смещению характеристической полосы «амид I» амидной группы на 1688 см^{-1} . ИК-спектр субстанции индометацина, использованной нами в ходе выполнения исследования представлен на рисунке 1, Приложение 1. Полученный ИК-спектр характерен γ -формы индометацина, так на нем можно выделить следующие характеристические полосы: 1715 см^{-1} (колебания $\text{C}=\text{O}$ димеров), 1691 см^{-1}

(колебания «амид I» амидной группы), 1480 см⁻¹ (колебания C=C бензольного кольца), 1307 см⁻¹ (колебания C-O и гидроксильной группы), 1068 см⁻¹ (колебания C-Cl) [96, 137, 180].

Фармакологическая активность.

Индометацин является производным индол-3-уксусной кислоты, классифицируется как нестероидное противовоспалительное средство (НПВС). Оказывает противовоспалительное, анальгезирующее и жаропонижающее действие. Механизм действия связан с ингибированием фермента ЦОГ, что приводит к угнетению синтеза простагландинов из арахидоновой кислоты. Кроме того последние исследования показали, что индометацин обладает значительной противоопухолевой активностью в отношении многих типов раковых клеток *in vitro* и *in vivo*. Так индометацин ингибирует пролиферацию опухолевых клеток, уменьшает онкогенез за счет усиления иммунного ответа, ингибирует ангиогенез [95, 117, 203].

2.1.2. Eudragit® EPO/E100



Серия № G160431543, «Evonik».

Описание. Терполимер катионного характера на основе диметиламиноэтилметакрилата, метилметакрилата и бутилметакрилата. Молярное соотношение 2:1:1, молярная масса 150 000 г/моль [184]. По внешнему виду представляет собой светло-желтые гранулы (E100) или порошок (EPO) с характерным запахом аминов.

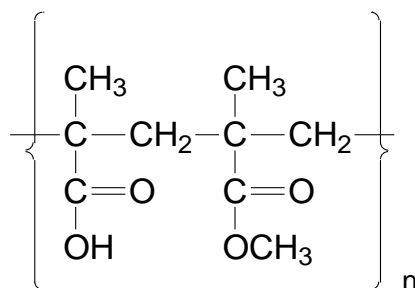
Растворимость. 1 г растворяется в 7 ч метанола, этанола, изопропанола, ацетона, этилацетата, хлороформа и 1 М растворе хлористоводородной кислоты, образуя прозрачные слабо опалесцирующие растворы. Практически не растворим в петролейном эфире и воде.

Подлинность.

1) В ИК - спектре ЕРО присутствуют характеристические полосы этерифицированных карбоксильных групп при 1190, 1240, 1270 и 1730 см⁻¹, а так же неионизированных диметиламиногрупп при 2770 и 2820 см⁻¹ (рисунок 2, Приложение 1). Полученные результаты согласуются с материалами, изложенными в спецификации компании «Evonik» в отношении данных типов Eudragit® [184].

2) На ДСК-термограмме ЕРО (Е100) присутствует температура стеклования на 52,1±1,3 °С.

2.1.3. Eudragit® S100



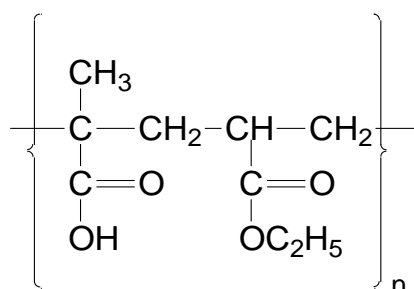
Серия №В130505002, «Evonik».

Описание. Сополимер анионного характера на основе метакриловой кислоты и метилметакрилата. Соотношение свободных карбоксильных групп к эфирным 1:2. Молекулярная масса 125 000 г/моль. По внешнему виду представляет собой мелкодисперсный, пылящий порошок белого цвета, со слабо кислым запахом.

Растворимость. 1г твердого вещества растворяется в 7 ч метанола, этанола, изопропанола, ацетона, 1 М растворе гидроксида натрия, образуя прозрачные до слабо опалесцирующих растворы. Твердое вещество практически не растворяется в хлороформе, петролейном эфире и воде [184].

Подлинность.

- 1) В ИК-спектре S100 различают характеристические полосы эфирных групп при 1170, 1190 и 1270 см⁻¹, а также колебания С=О при 1730 см⁻¹. Заметны также колебания СН_x при 1385-1390, 1450 см⁻¹. Широкий диапазон абсорбции, возникающий между 2500 и 3500 см⁻¹, объясняется карбоксильными группами и перекрывается колебаниями СН_x при 2900-3000 см⁻¹ (рисунок 3, Приложение 1).
- 2) На ДСК-термограмме S100 присутствует температура стеклования на 173,35±1,5 °С.

2.1.4. Eudragit® L30D-55

Серия № C130714136, «Evonik».

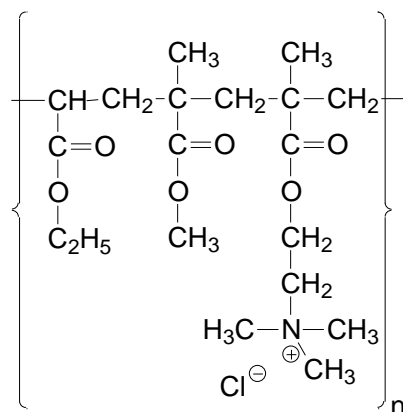
Описание. Водная дисперсия сополимера анионного характера метакриловой кислоты и этилакрилата в концентрации 30 % [184]. Отношение свободных карбоксильных групп к этерифицированным 1:1. Средний молекулярный вес - 320 000 г/моль. Продукт зарегистрирован в USP/NF как «Methacrylic Acid Copolymer Dispersion». По внешнему виду представляет собой молочно-белую дисперсию с низкой вязкостью и слабым характерным запахом.

Смешиваемость. Дисперсия смешивается с водой в любых соотношениях. При смешивании 1 части Eudragit® L30D-55 с 5 частями ацетона, этанола или изопропилового спирта образуется прозрачный или слегка мутный вязкий раствор. Первоначально полимер осаждается, но затем снова растворяется в избытке органического растворителя.

Подлинность.

1) ИК-спектр L30D-55 (рисунок 4, Приложение 1) характеризуется наличием характеристических полос при 1705 см^{-1} (валентные колебания связи $\text{C}=\text{O}$ в карбоксильной группе), при 1730 , 1170 и 1270 см^{-1} (этерифицированные карбоксильные группы).

2) На ДСК-термограмме L30D-55 вначале имеется типичный эндотермический пик, который следует отнести к испарению воды; так же можно наблюдать второй эндотермический пик при $215 \text{ }^\circ\text{C}$, который согласно литературе указывает на образование ангидрида в процессе нагревания. Также на ДСК-термограмме L30D-55 виден процесс стеклования, который происходит при температуре $124,4 \pm 1,6 \text{ }^\circ\text{C}$, что соответствует спецификации производителя.

2.1.5. Eudragit® RL 30 D

Серия G160216508.

Описание. Поли(этилакрилат-со-метилметакрилат-со-триметиламмониетилметакрилата хлорид) 1:2:0,2. М.м. 150 000 г/моль. Водная дисперсия 30% рН-нечувствительного полимера. По внешнему виду представляет собой молочно-белую дисперсию низкой вязкости со слабым характерным запахом.

Смешиваемость. Дисперсия смешивается с водой в любых соотношениях. Не растворяется в кислых и щелочных растворах. При смешивании 1 части Eudragit® RL30D с 5 частями ацетона, этанола или изопропилового спирта образуется прозрачный или слегка мутный вязкий раствор. Первоначально

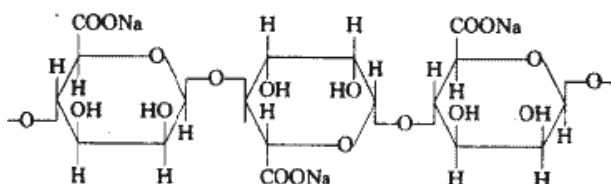
полимер осаждается, но затем снова растворяется в избытке органического растворителя [184].

Подлинность.

1) В ИК-спектр RL (рисунок 5, Приложение 1) имеются характеристические полосы этерифицированных карбоксильных групп на 1150 – 1190, 1240 – 1270 см^{-1} , а также 1730 см^{-1} . Полосы на 960-980 см^{-1} соответствуют колебаниям четвертичной аммониевой группы. Полученные результаты согласуются с материалами, изложенными в спецификации фирмы «Evonik Ind.»

2) На ДСК-термограмме RL присутствует температура стеклования на $73,45 \pm 2,5$ °С.

2.1.6. Альгинат натрия



Серия № G3206901, «FMC».

Описание. Альгинат натрия - натриевая соль альгиновой кислоты, которая представляет собой смесь полиуроновых кислот, состоящую из остатков D-маннуриновой кислоты и L-гулуриновой кислоты. Белый или бледно-желтовато-коричневый порошок.

Растворимость. Медленно растворим в воде, образуя вязкий, коллоидный раствор, практически нерастворим в 96 % этаноле.

Подлинность.

1) ИК-спектр АЛГ-Na (рисунок 6, Приложение 1) характеризуется наличием широкой полосы при 3600-3000 см^{-1} обусловленной валентными колебаниями гидроксильных групп, кроме того на ИК-спектре АЛГ-Na присутствуют

асимметричные и симметричные валентные колебания карбоксильных групп на 1600 и 1410 см^{-1} .

2) На ДСК-термограмме альгината натрия присутствует типичный эндотермический пик, который следует отнести к испарению воды, затем наблюдается экзотермическое поведение, которое начинается примерно с 200 °С, с максимумом примерно на 250 °С, соответствующего разложению полимера.

2.1.7. Таблетки, покрытые оболочкой, «Индометацин», 25 мг

Серия. 20212.

Производитель. ООО "ОЗОН", Россия.

Описание. Таблетки, покрытые оболочкой, светло-коричневого цвета, круглой двояковыпуклой формы.

Форма выпуска. По 30 таблеток в контурной ячейковой упаковке.

2.1.8. Таблетки, пролонгированного действия, «Метиндол Ретард», 75 мг

Серия. 80137479.

Производитель. МЕДА Фарма ГмбХ и Ко.КГ, Германия.

Описание. Таблетки, покрытые оболочкой, светло-коричневого цвета, круглой двояковыпуклой формы.

Форма выпуска. По 25 таблеток в контурной ячейковой упаковке.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Методика получения микрокапсул методом ультразвукового распыления

Для получения микрокапсул методом УЗ-распыления была использована экспериментальная установка, схематично изображенная на рисунке 3 и методика получения микрокапсул методом УЗ-распыления, предложенная в работе [93].

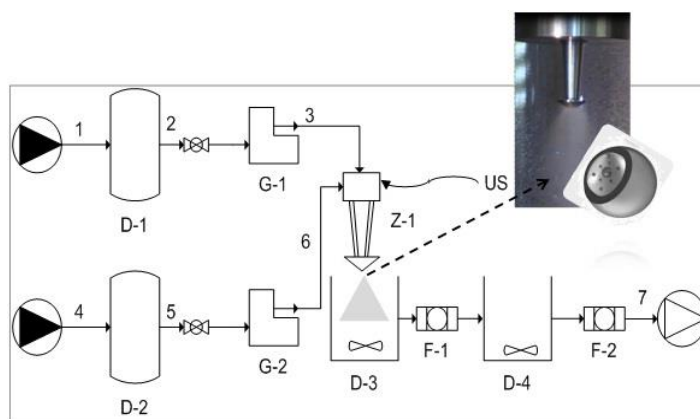


Рисунок 3 - Экспериментальная установка для получения микрокапсул методом УЗ-распыления.

Экспериментальная установка состоит из следующих узлов: D-1 и D-2 резервуары наполненные растворами, образующими ядро и оболочку; G-1 и G-2 перистальтические насосы; Z-1 двойной распылительный канал; D-3 сосуд с первым ретикуляционным раствором; D-4 сосуд со вторым ретикуляционным раствором; US - ультразвуковой генератор; F-1 и F-2 – фильтры; 1-2-3 каналы подающие ядрообразующий раствор; 4-5-6 каналы подающие раствор образующий оболочку. Процесс получения микрокапсул заключался в следующем: растворы альгината натрия, образующие ядро и оболочку, из резервуаров D-1 и D-2 с помощью перистальтических насосов G-1 и G-2 одновременно распыляли через двойной распылительный канал, на который с помощью ультразвукового генератора подавались УЗ-колебания с частотой 20 кГц. Распыление проходило в течение 2 минут в ретикуляционный раствор, при дальнейшем перемешивании на магнитной мешалке в течении 5 минут. МК, полученные таким образом, отделяли от жидкости фильтрованием под вакуумом, промывали деионизированной водой и лиофильно сушили. Процесс сушки проводили с помощью лиофильной сушилки ЛЮ 5Р «5Paskal». Таким образом были получены микрокапсулы плацебо и три типа микрокапсул с ИНД – А, В, С, отличающихся использованным ретикуляционным раствором и наличием второй стадии комплексообразования. Все технологические параметры получения МК приведены в таблице 7. Схематичное изображение микрокапсул, на примере МК типа С представлено на рисунке 7, Приложение 1.

Таблица 7 – Технологические параметры получения микрокапсул

Состав и технологические параметры	Плацебо	Тип А	Тип В	Тип С
Состав раствора, образующего ядро, %				
АЛГ-Na	1,3			
ИНД	-	0,17		
Плюроника F127	1,3			
Этанол	12,7			
Состав раствора, образующего оболочку, %				
АЛГ-Na	1,5			
Скорость подачи, мл/мин				
Раствор, образующий ядро	1,1			
Раствор, образующий оболочку	4,35			
Частота УЗ-колебаний, кГц	20			
Время распыления, мин	2			
Первый ретикуляционный раствор	0,5 % раствор E100	0,89 % раствор CaCl ₂	0,5 % раствор E100	0,5 % раствор E100
Скорость перемешивания в процессе распыления и комплексообразования, об/мин, об/мин	400			
Время комплексообразования (гелеобразования), мин	5			
Второй ретикуляционный раствор	-			0,1 % раствор L30D-55
Время второй стадии комплексообразования, мин	-			3
Скорость перемешивания в процессе распыления и комплексообразования, об/мин	-			400
Способ разделения	Фильтрация под вакуумом			
Тип сушки	Лиофильная сушка (-52°C, 5 Па)			

2.2.2. Получение полимер-лекарственных комплексов

ЕРО/ИНД, RL/ИНД

Получение ПЛК проводили по методике приведенной ниже.

1) Готовили раствор (в случае ЕРО) или суспензию (в случае RL) поликатиона, для чего навеску ЕРО растворяли в 0,1 М растворе уксусной кислоты при перемешивании на магнитной мешалке (ИКА[®], Германия) при 500 об/мин. После растворения ЕРО доводили раствор до рН 6,8 при помощи 1 М раствора гидроксида натрия. Суспензию RL готовили следующим образом - навеску 30% водной дисперсии RL разводили в 0,05 М фосфатном буферном растворе с рН 7,4 при перемешивании на магнитной мешалке (ИКА[®], Германия) со скоростью 500 об/мин.

2) Готовили раствор ИНД. Навеску ИНД растворяли в 0,1 М растворе гидроксида натрия при перемешивании на магнитной мешалке (ИКА[®], Германия) при 500 об/мин, после чего доводили рН раствора до значения 7,4 1 М раствором уксусной кислотой.

3) Смешивали приготовленные растворы при помощи делительной воронки со скоростью 1-2 капли в секунду, используя магнитные мешалки. Выделялся сополимер-лекарственный комплекс в виде желтого рыхлого, объемного осадка, оседающего при стоянии. Полученные системы выдерживали в течение 2 суток. Схемы химического взаимодействия приведены на рисунках 8-9, Приложение 1.

4) Выход полученных осадков был оценен гравиметрически после центрифугирования в течение 1 часа при 5000 об / мин при 5 °С в лабораторной центрифуге SL16R («ThermoScientific», США) и сушки под вакуумом (вакуум-мушильный шкаф VD 23, Binder, Германия) в течение 2 дней при 40 °С до постоянного веса.

5) Оптимальный состав готовили аналогично в лабораторном реакторе LR 1000 с контролем рН и температуры при непрерывном перемешивании со скоростью 10000 об/мин, используя T25-цифровой гомогенизатор Ultra-Turrax[®] (ИКА[®], Германия), со скоростью подачи раствора 2 мл/мин. После выпадения

осадков частиц ПЛК они были трижды промыты сверхчистой водой (Smart2PureUV/UF, «ThermoScientific», США), заморожены при -18°C (Labconco® Shell Freezer, МО, США), а затем лиофилизированы в течение 2 дней (лиофильная сушилка Labconco®, FreeZone 1 L, МО, США). Твердые образцы хранили в плотно закрытых контейнерах при комнатной температуре. Схематичное представление фрагмента структуры образующегося ПЛК на примере ПЛК ЕРО/ИНД приведено на рисунке 4.

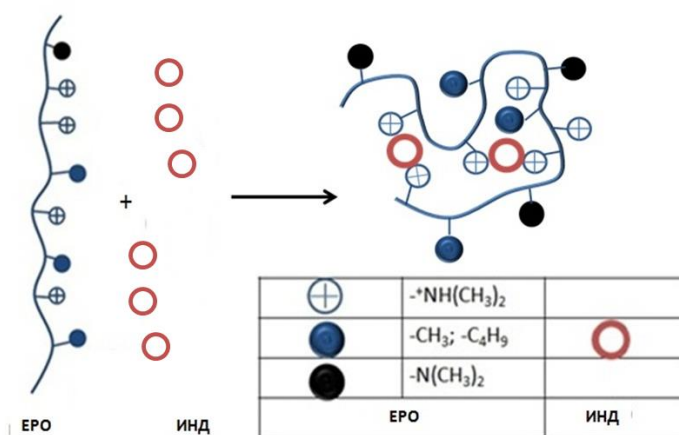


Рисунок 4 - Фрагмент структуры полилимер-лекарственного комплекса на основе сополимера Eudragit® ЕРО и индометацина [156].

2.2.3. Получение интерполиэлектролит-лекарственного комплекса ЕРО/S100/ИНД

Получение ПЛК проводили по методике приведенной ниже.

1) Готовили раствор поликатиона, для чего навеску ЕРО растворяли в 0,1 М растворе уксусной кислоты при перемешивании на магнитной мешалке (ИКА®, Германия) при 500 об/мин. После растворения ЕРО доводили раствор до рН 6,8 при помощи 1 М раствора гидроксида натрия.

2) Готовили раствор ИНД в присутствии полианиона, для этого растворяли навеску полианиона (S100) в 0,1 М растворе гидроксида натрия. В растворе полианиона растворяли требуемое количество ИНД при перемешивании на магнитной мешалке (ИКА®, Германия) при 500 об/мин.

Полученный раствор доводили до значения $pH = 7,2$ с помощью 1 М раствора уксусной кислоты и разбавляли деминерализованной водой до необходимого объема.

3) Приготовленные растворы смешивали на магнитной мешалке при помощи делительной воронки со скоростью 1-2 капли в секунду. Выделялся желтый рыхлый осадок, оседающей при стоянии. Полученные системы выдерживали в течение 2 суток. Схема химического взаимодействия приведена на рисунке 10 в Приложение 1.

4) Выход полученных осадков был оценен гравиметрически после центрифугирования в течение 1 часа при 5000 об / мин при $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ в лабораторной центрифуге SL16R («ThermoScientific», США) и сушки под вакуумом (вакуум-муфельный шкаф VD 23, Binder, Германия) в течение 2 дней при $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ до постоянного веса.

5) Оптимальный состав готовили аналогично в лабораторном реакторе LR 1000 с контролем pH и температуры при непрерывном перемешивании со скоростью 10000 об/мин, используя T25-цифровой гомогенизатор Ultra-Turrax® (IKA®, Германия), со скоростью подачи раствора 2 мл/мин. После выпадения осадков частиц ИПЭЛК они были трижды промыты сверхчистой водой (Smart2PureUV/UF, «ThermoScientific», США), заморожены при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Labconco® Shell Freezer, МО, США), а затем лиофилизированы в течение 2 дней (лиофильная сушилка Labconco®, FreeZone 1 L, МО, США). Твердые образцы хранили в плотно закрытых контейнерах при комнатной температуре.

Процесс образования ИПЭЛК можно разделить на три стадии:

- 1) образование полимер-лекарственного комплекса при взаимодействии ЕРО с противоположно заряженными ИНД и S100;
- 2) миграция ионных связей и образование термодинамически устойчивой системы;
- 3) агрегирование и осаждение частиц ИПЭЛК.

В результате образуется структура ИПЭЛК, которая содержит:

- 1) связанные цепи макромолекул ЕРО и полианиона;

2) «дефектные области» – фрагменты полимерных цепей, не участвующих в интерполиэлектrolитной реакции из-за отсутствия реакционно-способных групп или различных стерических препятствий [119], в которых присутствуют как неионизированные диметиламиногруппы ЕРО и сложноэфирные группы обоих полимеров, так и ионизированные диметиламиногруппы, связанные с карбоксильными группами ЛВ и полианиона;

3) свободные последовательности ЕРО способные взаимодействовать с противоположно заряженными молекулами ЛВ и полианиона.

Схематичное представление фрагмента структуры ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД приведено на рисунке 5.

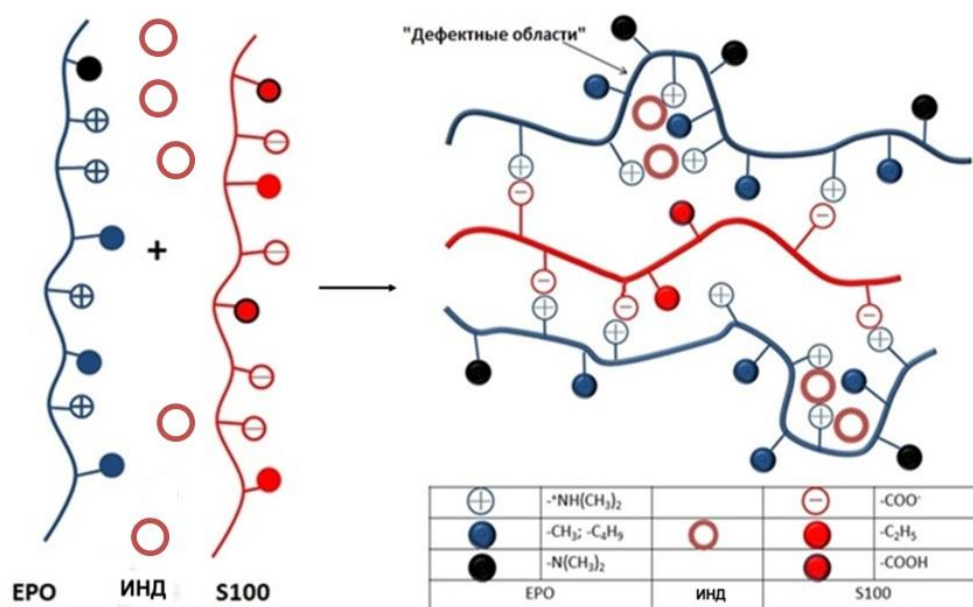


Рисунок 5 - Фрагмент структуры интерполиэлектrolит-лекарственного комплекса на основе сополимеров Eudragit® ЕРО, Eudragit® S100 и индометацина [156].

Необходимо отметить, что химическое взаимодействие между ЕРО и ИНД, будет оказывать влияние на скорость высвобождения данного лекарственного вещества [112, 125, 126, 172, 173].

2.2.4. Гравиметрия

Целью гравиметрического исследований было определение стехиометрического состава ПЛК и ИПЭЛК, а также оценка влияния состава реакционной среды на образование ПЛК и ИПЭЛК [18, 21, 105].

Готовили растворы (Eudragit® EPO, L100, S100) и суспензию (Eudragit® RL) сополимеров в водно-солевых средах с pH от 6,5 до 7,5 – при различном мольном составе реакционной среды. Растворы полимеров и лекарственных веществ смешивали в двух разных порядках смешивания: прямой – добавление поликатиона к полианиону или лекарственному веществу; обратный – добавление полианиона или лекарственного вещества к поликатиону. Индометацин с суспензией Eudragit® RL смешивали только в обратном порядке. Соотношения смешиваемых компонентов представлены в таблицах 1-4, Приложения 2. Массы сополимеров рассчитывали исходя из средней молекулярной массы звена.

Для определения оптимального состава реакционной смеси был проведен гравиметрический анализ поликомплексных и полимер-лекарственных систем на основе изучаемых объектов исследования.

Полученные системы выдерживали в течение 2 дней, затем осадок отделяли от надосадочной жидкости центрифугированием в течение 1 часа при 5000 об / мин при 5°C в лабораторной центрифуге SL16R («ThermoScientific», США). Полученный осадок сушили под вакуумом (вакуум-мушильный шкаф VD 23, Binder, Германия) в течение 2 дней при 40 ° C до постоянного веса и взвешивали на аналитических весах (Vibra, Shinko Denshi CO LTD., Япония) с точностью до 0,0001.

2.2.5. Вискозиметрия

Целью вискозиметрического анализа было определение стехиометрического состава ИПЭК, ПЛК и ИПЭЛК, а также оценка влияния состава реакционной среды на образование ИПЭК, ПЛК и ИПЭЛК [16, 19, 25].

Измерения выполняли на капиллярном вискозиметре Убеллоде с диаметром капилляра 0,56 см при температуре $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$, с использованием водяного термостата прибора ЛОРТС. Измеряли вязкость надосадочной жидкости, полученную после центрифугирования осадков ИПЭК, ПЛК и ИПЭЛК, полученных при различном составе реакционной среды и порядке смешивания.

Надосадочную жидкость фильтровали через стеклянный фильтр (ПОР-100) отбирали аликвоту 20,0 мл и определяли ее вязкость, измеряя время истечения раствора не менее 3-5 раз с помощью секундомера с точностью до 0,1 секунды. Измерение вязкости проводили не менее 3 раз.

Относительную вязкость раствора определяли по формуле:

$$\eta_{\text{отн.}} = \frac{\tau}{\tau_0} - 1$$

где: $\eta_{\text{отн.}}$ — относительная вязкость раствора,

τ — время истечения раствора, сек.,

τ_0 — время истечения растворителя, сек.

2.2.6. УФ-спектрофотометрия

Метод УФ-спектрофотометрии применялся для расчета эффективности инкапсуляции ИНД, для оценки количества ИНД вступившего в ИПЭР и количественного определения содержания индометацина в ИПЭЛК, а так же при проведении теста «Растворение», для оценки высвободившегося количества ИНД.

Для оценки теоретического количества ИНД, которое может быть инкапсулировано в процессе получения микрокапсул методом ультразвукового распыления, растворы, образующие ядро и оболочку, распыляли непосредственно в фосфатный буферный раствор с рН 7,4. Распыление проводили при условиях аналогичным условиям получения микрокапсул типов А, В, С (время распыления 2 минуты). Затем отбирали пробу из фосфатного буферного раствора и методом УФ-спектрофотометрии определяли количественное содержание ИНД в пробе.

Для оценки эффективности инкапсуляции (ЕЕ,%) ИНД в процессе получения микрокасул методом ультразвукового распыления, навеску микрокасул растворяли в фосфатном буферном растворе с рН 7,4 в течении 1 часа при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Затем отбирали пробу из фосфатного буферного раствора, смешивали ее с 96 % этанолом в соотношении 1:1 и методом УФ-спектрофотометрии определяли количественное содержание ИНД в пробе.

Концентрацию индометацина определяли спектрофотометрически на УФ/Вид-спектрофотометре Lambda35 (PerkinElmer, США) при следующих условиях:

- 1) длина волны – 318 нм.
- 2) раствор сравнения – смесь вода:этанол (1:1);
- 3) длина оптического пути 1 см.

Проводили расчет ЕЕ,% по следующей формуле,

$$ЕЕ, \% = \frac{С_{пр} (ИНД) \times 100\%}{С_{теор}(ИНД)}$$

Где,

ЕЕ,% - эффективность инкапсуляции;

$C_{теор}(ИНД)$ – концентрация ИНД в 100 мл фосфатного буферного раствора, полученном после УЗ-распыления в него капсулообразующих растворов в течении 2 минут;

$C_{пр}(ИНД)$ – концентрация ИНД в надосадочной жидкости, полученном после растворения в нем навески микрокасул.

Для определения количества ИНД, вступившего в ИПЭР, осадки ПЛК и ИПЭЛК отделяли от надосадочной жидкости центрифугированием при 3000 об/мин в течении 10 минут, далее отбирали пробу надосадочной жидкости объемом 5 мл. Пробу фильтровали через шприцевой фильтр с размером пор 0,45 мкм. Далее 1 мл фильтрата разводили в мерной колбе объемом 50 мл средой, с соответствующим значением рН. Оптическая плотность каждого

раствора определялась 3 раза.

Количество прореагировавшего ИНД определяли по следующей формуле,

$$X, \% = \frac{(\text{Стеор(ЛВ)} - \text{Снж(ЛВ)}) \times 100\%}{\text{Стеор(ЛВ)}}$$

Где,

X,% - количество ЛВ, вступившего в реакцию

$C_{\text{теор}}(\text{ЛВ})$ – концентрация ЛВ в составе реакционной среды

$C_{\text{нж}}(\text{ЛВ})$ – концентрация ЛВ в надосадочной жидкости

Концентрацию ИНД в надосадочной жидкости определяли спектрофотометрически на УФ/Вид-спектрофотометре Lambda 25 (PerkinElmer, США) при следующих условиях:

- 1) длина волны: индометацин – 270 нм,
- 2) раствор сравнения – растворитель (водно-солевая среда);
- 3) длина оптического пути 1 см.

Количественное содержание ИНД в ИПЭЛК определяли после растворения навески порошка ИПЭЛК в 0,1 М растворе гидроксида натрия в течении 1 часа при постоянном перемешивании на магнитной мешалке со скоростью 400 об/мин.

Расчет количества индометацина во всех случаях проводили с использованием ранее полученной калибровочной зависимости в диапазоне концентраций от 5 мкг/мл до 50 мкг/мл ($R^2 = 0,999$).

2.2.7. ИК-спектроскопия

Для оценки структурных особенностей микрокапсул, ИПЭК, ПЛК и ИПЭЛК был использован метод ИК-спектроскопии, позволяющий определить наличие функциональных групп исходных компонентов в составе микрокапсул, ИПЭК, ПЛК и ИПЭЛК [30, 31, 32, 33]. ИК-спектр исследуемых образцов снимали на приборе Nicolet iS5 с приставкой однократного НПВО SmartiTR (Thermo Scientific, США) области частот 500-4000 см^{-1} . Отнесение полос

поглощения в ИК-спектрах проводили в соответствии с данными литературы [20, 56].

2.2.8. Элементный органический анализ

Элементный органический анализ используют для качественного и количественного определения углерода, водорода, азота, кислорода, а также других элементов в составе исследуемого соединения или для установления или подтверждения брутто- формулы вещества.

Методы количественного элементного анализа основаны на предварительном разрушении органической части молекулы, которое осуществляется путем минерализации в присутствии окислителей или восстановителей, с применением различных катализаторов или высокой температуры в зависимости от модификации метода. Образовавшиеся вследствие минерализации продукты определяют различными физическими, химическими или физико-химическими методами [24].

Элементный органический анализ проводился на приборе CHNS/O ThermoFlash 2000 (ThermoScientific, США) [2]. Для определения азота навеску вещества с точностью до 10^{-7} на микровесах XP6 (Mettler-Toledo, Швейцария). Содержание азота (X) в процентах вычисляли по формуле:

$$X=[a(V - n) \cdot 100]/g ,$$

где a – масса 1 мл азота при данной температуре (t) и данном исправленном давлении (p); V– объем азота, мл; n – поправка, полученная для данного объема при калибровании азотомера, мл; g – навеска, мг.

2.2.9. Дифференциальная сканирующая калориметрия с модулированной температурой

Измерения температуры стеклования ИПЭК, ПЛК, ИПЭЛК и микрокапсул в сравнении с индивидуальными компонентами проводились методом ДСК-МТ на приборе Discovery DSC (TA Instruments, США). Образцы в количестве 3-5 мг в алюминиевой капсуле помещали в термоячейку прибора, предварительно

откалиброванного по стандартным образцам (бензойная кислота, октадекан, индий металлический) и сканировали в интервале температур от 0°C до 300°C со скоростью 2°C/мин.

2.2.10. Порошковая рентгеновская дифракция

Порошковую рентгеновскую дифракцию применяли при анализе лиофилизированных образцов ПЛК ЕРО/ИНД 3:1, ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 и физических смесей аналогичного состава. В режиме отражения использовалась автоматизированная система дифрактометра XPERT-PRO (PANalytical, Almelo, Нидерланды). Все образцы были проанализированы без предварительного измельчения или любой другой подготовки с помощью 2Theta сканирования. Использовалась медная трубка с генераторной установкой с напряжением 45 кВ и силой тока 40 мА. Анализ проводили при времени вращения образца - 4,0 с. На траектории дифрагированного луча были установлены прорези 0,04 рад и программируемая рассеивающая щель. Последняя была запрограммирована на сохранение 10 мм наблюдаемой длины. В качестве детектора использовали RTMS X'Celerator с активной длиной 2.122°. Данные собирались в режиме непрерывного сканирования с диапазоном сканирования 4,0040-40,001° и шагом 0,0167°. Время отсчета составило 499,745 с. Для сбора данных была использована сборщик данных X'Pert версии 2.2a (PANalytical, Almelo, Нидерланды), и для визуализации и обработки данных использовалась версия X. Pert Data Viewer 1.2.a (PANalytical, Almelo, Нидерланды).

2.2.11. Оценка размера частиц и дзета-потенциала

Измерение размера и дзета-потенциала частиц ПЛК и ИПЭЛК проводили на приборе Zetasizer Nano ZS (Malvern, Англия) методами динамического рассеяния света и электрофоретического рассеяния света соответственно. Измерение проводили после приготовления 0,01% суспензии образцов ПЛК и ИПЭЛК. Суспензии готовили на деионизированной воде при комнатной

температуре. При измерении размеров частиц определяли их гидродинамический диаметр и полидисперсный индекс (распределение частиц по размерам). Анализ проводили с использованием угла детектирования 173° , который позволяет определять размер частиц в концентрированных и мутных образцах. Все измерения были проведены при температуре 25°C в трехкратных повторностях.

2.2.12. Исследование кинетики набухания

Матрицы, содержащие 0,1 г ИПЭК ЕРО/S100 последовательно помещали в среды, имитирующие рН различных отделов ЖКТ: 1 час в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты; 2 часа в фосфатном буферном растворе с рН=5,8; 2 часа в фосфатном буферном растворе с рН=6,8; 2 часа в фосфатном буферном растворе с рН=7,4; общее время эксперимента составило 7 часов. [7, 22, 36, 41, 159]. Объем каждой среды, имитирующей ЖКТ составлял 40 мл. Образцы термостатировали при $37\pm 0,5^\circ\text{C}$ на приборе ЛОРТС-6 фирмы ГАЙОТ (Россия). Через каждые 30 минут образцы взвешивали на аналитических весах (Vibra, Япония) с точностью до 0,0001г. Степень набухания (Н,%) образцов определяли по формуле:

$$\text{Н}\% = \frac{m_2 - m_1}{m_1} * 100 \%, \text{ где}$$

m_1 - масса сухого образца;

m_2 - масса набухшего образца.

2.2.13. Определение степени сыпучести порошков

Сыпучесть, угол естественного откоса и насыпной объем оптимального образца ИПЭЛК определяли на тестере для определения сыпучести порошков/гранулятов тип GTB (Erweka, Германия) и на приборе для определения насыпной плотности гранулятов SVM 121 (Erweka, Германия) в соответствии с ГФ XIV, ОФС. 1.4.2.0016.15.

Для оценки сжимаемости рассчитывали индекс Хауснера (Н) и индекс Карра (J) в соответствии с USP 31 по формулам:

$$\text{H} = P_y/P$$

$$J = 100 \cdot (P_y - P) / P_y$$

где,

P_y – насыпная плотность после уплотнения;

P – насыпная плотность до уплотнения.

2.2.14. Получение таблеток ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1

Таблетки получали методом прямого прессования без использования вспомогательных веществ на ручном гидравлическом прессе (PerkinElmer, США), давление прессования составило 2,45 МПа, диаметр таблеток для экспериментов *in vitro* составил 9 мм, для экспериментов *in vivo* 6 мм, форма таблеток в обоих случаях двояковыпуклая, радиус кривизны 1,1D. Средняя масса таблеток ИПЭЛК рассчитана на содержание в одной таблетке 25 мг ИНД и составила 170 мг и 110 мг для таблеток ИПЭЛК и ПЛК соответственно.

2.2.15. Тест «Растворение»

Тест «Растворение» проводили методом 2 по ГФ XIV с использованием тестера растворения DT 828 (аппарат II «Лопастная мешалка»), оснащенного с автосамплером ASS-8, коллектором фракции FRL 824 и перистальтическим насос ICP-8 (Erweka, Германия). Концентрацию индометацина определяли УФ-спектрофотометрически, с использованием ранее полученной калибровочной зависимости.

Тест «Растворение» для микрокапсул, полученных методом УЗ-распыления, проводили по следующей методике: 400 мг микрокапсул помещали в 300 мл 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты на 2 часа, затем к раствору хлористоводородной кислоты добавляли 0,2 М раствор трехосновного фосфата натрия до достижения рН 6,8. При необходимости рН полученного раствора доводили до 6,8 с помощью 1 М раствора гидроксида натрия или 1 М раствора хлористоводородной кислоты, контроль рН осуществляли в каждом стакане с помощью портативного рН-метра (Thermo Scientific, США). При рН = 6,8

эксперимент продолжался в течение 3 часов. Температура поддерживалась на уровне $37 \text{ }^\circ \pm 0,5^\circ\text{C}$, скорость перемешивания 75 об/мин. Количество высвободившегося ИНД оценивали методом УФ-спектрофотометрии, через каждые 15 минут.

Тест «Растворение» для порошков и таблеток на основе ПЛК и ИПЭЛК проводили по следующей методике: навеску порошка или таблетки помещали в 400 мл 0,1 М хлористоводородной кислоты; скорость вращения лопастей – 75 об/мин; температура водяной бани $37 \text{ }^\circ \pm 0,5^\circ\text{C}$. рН среды растворения последовательно увеличивали - 1 час в 0,1 М хлористоводородной кислоте (рН = 1,2), 2 часа в фосфатном буферном растворе (рН = 5,8), 2 часа в фосфатном буферном растворе (рН = 6,8) и 2 часа в фосфатном буферном растворе (рН = 7,4) [141]. Для последовательного повышения рН в стаканах с хлористоводородной кислотой после первого часа добавляли по 400 мл 0,02 М двузамещенного фосфата калия тригидрата, полученный раствор последовательно доводили 1 М раствором гидроксида натрия до нужного значения рН (5,8, 6,8, 7,4). Контроль рН осуществляли в каждом стакане с помощью портативного рН-метра (Thermo Scientific, США). Через каждые полчаса отбирали пробы и восполняли объем аналогичной средой растворения [8, 9, 48]. Пробы профильтровывали через шприцевые фильтры с диаметром отверстий 0,45 мкм). Время эксперимента – для порошков 7 часов, для таблеток - 10 часов.

2.2.16. Фармакокинетическая оценка систем на основе ПЛК и ИПЭЛК с участием химически комплементарных сополимеров Eudragit в экспериментах *in vivo*

Для фармакокинетических исследований были отобраны 12 кроликов-самцов породы Шиншилла со средним весом 3,70 кг. После ночного 12-часового голодания, утром, натощак, каждому кролику однократно перорально вводили ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 в виде суспензированных в воде порошков или в виде таблеток с дозировкой 25 мг индометацина.

Суспензию порошка вводили с помощью шприца с зондом, таблетки вводили с помощью таблеткодавателя. Через определенные интервалы времени: 1; 2; 4; 8; 12 и 24 ч с момента введения отбирали пробы крови из ушной вены кроликов по 0,5-0,7 мл [28, 38, 39]. Образцы центрифугировали 1000 об/мин (4 мин). К образцу плазмы крови объемом 500 мкл добавляли 500 мкл ацетонитрила для осаждения белков. Полученную суспензию перемешивали на вортексе «ИКА» в течении 2 минут, после чего перемешивали на шейкере в течении 2 минут. Полученные осадки центрифугировали при 10000 об/мин на центрифуге, в течении 10 минут. Концентрацию индометацина в супернатанте определяли методом ВЭЖХ [79]. Хроматографический анализ проводили на хроматографе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония), с использованием хроматографической колонки с привитой фазой C-18 (длина 150 мм, внутренний диаметр 4,6мм, зернение сорбента 5 мкм) при температуре 40 °С, в качестве элюента использовали смесь 0,01 М раствора ортофосфорной кислоты и ацетонитрила в соотношении 30:70. Элюент на колонку подавали в изократическом режиме со скоростью 1 мл/мин. Время появления хроматографического пика составляло 2 мин. Детекцию осуществляли на двухволновом УФ-детекторе при 280 нм и 318 нм [161]. Концентрацию индометацина рассчитывали по методу абсолютной калибровки. Для этого к 0,5 мл интактной сыворотки крови, полученной описанным выше способом, добавляли известное количество препарата (стандартный раствор в ацетонитриле) для получения растворов с концентрацией 0,5, 1, 2, 4 и 8 мкг/мл сыворотки (5 растворов) [31]. Калибровочный график в изученном интервале концентраций представлял собой прямую линию, характеризующуюся уравнением:

$$Y = aX + b, \text{ где}$$

$$a = 7,534452 \times 10^{-7}$$

$$b = 0,298393$$

$$R^2 = 0,997$$

Кинетику индометацина в плазме крови кроликов интерпретировали в рамках одночастевой модели с непараметрическим всасыванием. Основные фармакокинетические показатели рассчитывались в программе по прикладной фармакокинетике Thermo Kinetica® (Version 5.0, Build 5.00.11; Thermo Fisher Scientific, США).

Относительную биодоступность рассчитывали по формуле:

$$F(\text{rel}) = \frac{\text{AUC}(\text{образец})}{\text{AUC}(\text{препарат сравнения})} \times \frac{D(\text{препарат сравнения})}{D(\text{образец})} \times 100\%, \text{ где}$$

F(rel) – относительная биодоступность,

AUC – площадь под кривой,

D – доза ИНД.

2.2.17. Исследование острой токсичности

Фармакологические исследования по определению «острой» токсичности порошка ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 проведены на 162 белых беспородных мышах-самцах массой 17-25 г. согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств».

При определении «острой» токсичности опытные образцы композиций вводили в дозах 1000, 2000 и 3000 мг/кг в желудок в крахмальной слизи с помощью специального зонда. Каждую дозу вводили 6 мышам. Одновременно контрольным группам из 6 мышей вводили крахмальную слизь в том же объеме [55]. Проводили анализ картины общего действия - наличие угнетающего или возбуждающего действия на центральную нервную систему, отличительные особенности в поведении в сравнении с животными контрольной группы.

2.2.18. Тест «открытое поле»

Оценку влияния порошка ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 на ЦНС проводили по изменению ориентировочно-исследовательской реакции и двигательной активности животных. Для изучения двигательной и

исследовательской (ориентировочной) реакции животных использовали метод «открытое поле» на установке «Открытое поле» (НПК Открытая Наука, Москва, Россия). В «открытом поле» в течение 3 мин регистрировали количество пересечений линий и вертикальных стоек, что отражает неспецифический уровень возбуждения; количество заглядываний в отверстия как показатель исследовательской активности животного. Порошок ИПЭЛК вводили ежедневно перорально в дозе 2000 мг/кг в течение 14 дней. Результаты экспериментов обрабатывали статистически с вычислением t- критерия Стьюдента.

2.2.19. Определение размера и формы микрокапсул с индометацином, полученных методом ультразвукового распыления.

Определение размера и формы микрокапсул проводили путем анализа фотографий, сделанных с помощью оптического микроскопа «Leica DM LP», оснащенного цифровой камерой DFC 280, с использованием программного обеспечения общего пользования «ImageJ 1.40g» (Уэйн Расбанд, Национальный институт здравоохранения, США). Определение размера проводили для микрокапсул плацебо, типов А, В и С в количестве по 100 штук, до и после сушки.

2.2.20. Статистическая обработка полученных результатов

Результаты всех экспериментов статистически обрабатывали согласно ГФ XIII, ОФС 1.1.0008.15 [13].

ГЛАВА 3. Разработка и исследование микрокапсулированной системы доставки индометацина

3.1. Получение микрокапсул с индометацином

методом ультразвукового распыления и интерполиэлектролитного взаимодействия

Целью нашего исследования стала разработка технологии получения микрокапсул с пролонгированным высвобождением индометацином с оболочкой, построенной на основе интерполиэлектролитного взаимодействия. Такой технологией на наш взгляд может стать метод получения микрокапсул с помощью ультразвукового распыления. В качестве матрицы для микрокапсул использовали альгинат натрия. Применение альгината натрия обусловлено тем, что после ультразвукового распыления его раствора в раствор кальция хлорида, образуются однородные по размеру и форме капельки, которые мгновенно «сшиваются» вследствие ионного гелеобразования. На выходе получают микрочастицы альгината натрия однородные по размеру и форме. Однако полученные частицы не обладают пролонгированным высвобождением и не устойчивы в среде желудка. Придание таким частицам способности к модифицированному высвобождению лекарственного вещества может покрытие на основе ИПЭК.

Для достижения данной цели были совмещены ультразвуковое распыление и интерполиэлектролитное взаимодействие. В процессе получения микрокапсул были использованы следующие компоненты: альгинат натрия - в качестве материала, образующего ядро и оболочку, индометацин - в качестве модели плохо растворимого в воде лекарственного вещества (растворимость в воде при 25 °С 0,002-0,007 мг/мл), плуроник® F127 - в качестве эмульсификатора и средства уменьшающего количество пор на поверхности геля альгината натрия, этанол в качестве растворителя ИНД, раствор поликатиона Е 100 – в качестве комплексообразователя с альгинатом натрия, раствор полианиона L30D-55 - в качестве внешнего комплексообразователя для придания кислотоустойчивости оболочке микрокапсул.

3.1.1. Получение микрокапсул плацебо

Для предопределения возможности использования E100, вместо ионов кальция, в качестве «сшивающего агента» для альгината натрия описанная в главе 2 методика была применена нами для получения микрокапсул плацебо, без индометацина. Вначале мы определили оптимальную частоту УЗ-колебаний при которой образовывались микрокапсулы с наименьшим размером и наиболее однородным распределением по размерам. В таблице 8 приведены частоты УЗ-колебаний и размеры микрокапсул полученных при их использовании.

Таблица 8 – Зависимость размера МК от частоты УЗ-колебаний

№ п/п	Частота УЗ-колебаний, кГц	Размер микрокапсул, мкм
1	10	122,34±40,89
2	15	112,68±39,57
3	20	98,66±34,89
4	25	94,87±46,23

Как видно из приведенных данных наиболее однородное распределение по размерам и наименьший размер МК наблюдаются при распылении капсулообразующих растворов при частоте УЗ-колебаний в 20 кГц. В результате были получены микрокапсулы с оболочкой на основе ИПЭК E100/АЛГ-Na, сферической формы размером 98.66 ± 34.89 мкм (рисунок 6).

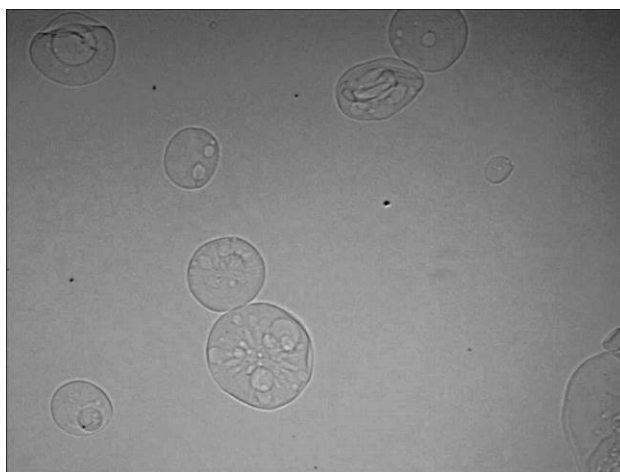


Рисунок 6 – Фотографии микрокапсул плацебо (10х кратное увеличение).

Для сушки полученных капсул нами была использована лиофильная сушка, использование которой позволило получить продукт, соответствующий поставленным задачам. Сравнительная характеристика полученных продуктов в зависимости от типа использованной сушки приведена в таблице 9.

Таблица 9 – Характеристика полученного продукта в зависимости от используемого типа сушки

№ п/п	Тип сушки	Параметры сушки		Характеристика продукта
		Температура, °С	Давление, Па	
1	Сушка на воздухе	25	-	Слипшаяся масса
2	Сушка в сушильном шкафу	40	-	Слипшаяся масса
3	Сушка в вакуум-сушильном шкафу	40	400	Слипшаяся масса
4	Лиофильная сушка	-52	5	Порошок

Таким образом, нами была установлена возможность использования раствора Е100 вместо раствора кальция хлорида в качестве комплексообразующего агента с АЛГ-На. На основе подобранных нами условий были получены три типа микрокапсул с ИНД – А, В, С, отличающихся использованным ретикуляционным раствором и наличием второй стадии комплексообразования.

3.2. Определение размера и формы микрокапсул типов А, В и С

В ходе определения размера полученных типов микрокапсул были выявлены некоторые их особенности. Во-первых, отмечается, что микрокапсулы, полученные путем образования ИПЭК между альгинатом натрия и Е100 (тип В) до сушки, не отличаются по размеру от микрокапсул, полученных при взаимодействии раствора альгината натрия с раствором CaCl_2 (Тип А). Размер микрокапсул типа А составил 72 ± 25 мкм, размер МК типа В

составил 77 ± 20 мкм. После лиофильной сушки микрокапсулы типа В уменьшаются в размере примерно на 10-15 % (средний размер 61 ± 13 мкм), в отличие от микрокапсул типа А, размер которых уменьшается почти на 90 % (конечный размер 6 ± 5 мкм). Данное различие в поведении микрокапсул типа А и В можно объяснить наличием на поверхности микрокапсул типа В оболочки, состоящей из ИПЭК АЛГ/Е100, придающей стабильность поверхности микрокапсул во время их сушки. В то же время на поверхности микрокапсул типа А отсутствует оболочка, в результате чего во время проведения лиофильной сушки микрокапсулы типа А теряют оставшуюся в них воду и соответственно уменьшаются в размере. Так же необходимо отметить форму полученных микрокапсул. Форма микрокапсул типа А до сушки каплевидная, поверхность частиц гладкая, после сушки форма частиц ближе к сферической, поверхность сморщенная (рисунок 7).

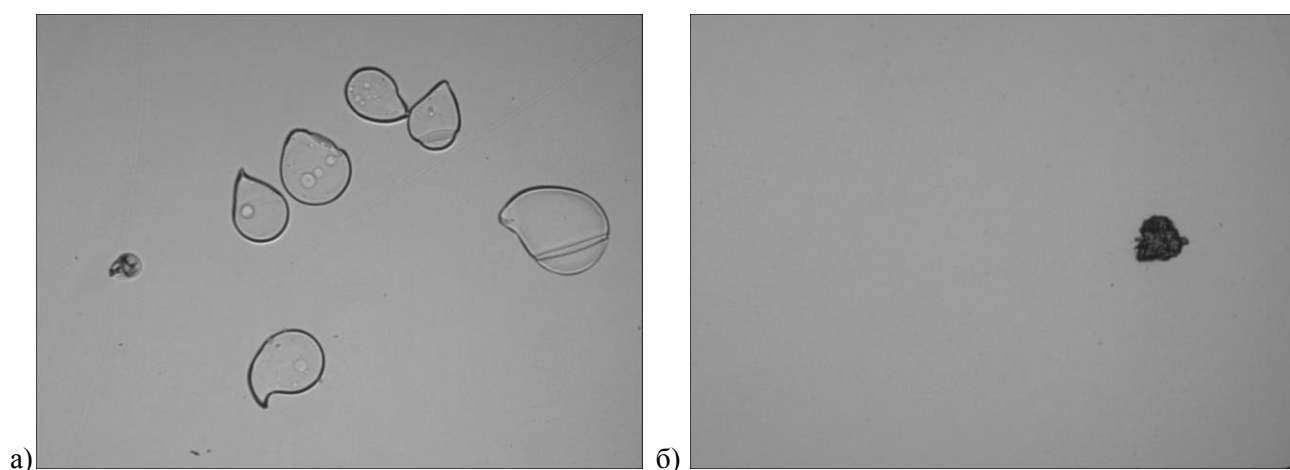


Рисунок 7 - Фотографии микрокапсул типа А. а – до сушки (10х кратное увеличение), б – после сушки (100х кратное увеличение).

Форма микрокапсул типа В до сушки сферическая, гладкая, внутри видны кристаллы ИНД. После сушки форма микрокапсул типа В становится вытянутой, эллиптической, при этом наблюдаются частицы неправильной формы с нарушенной поверхностью (рисунок 8).

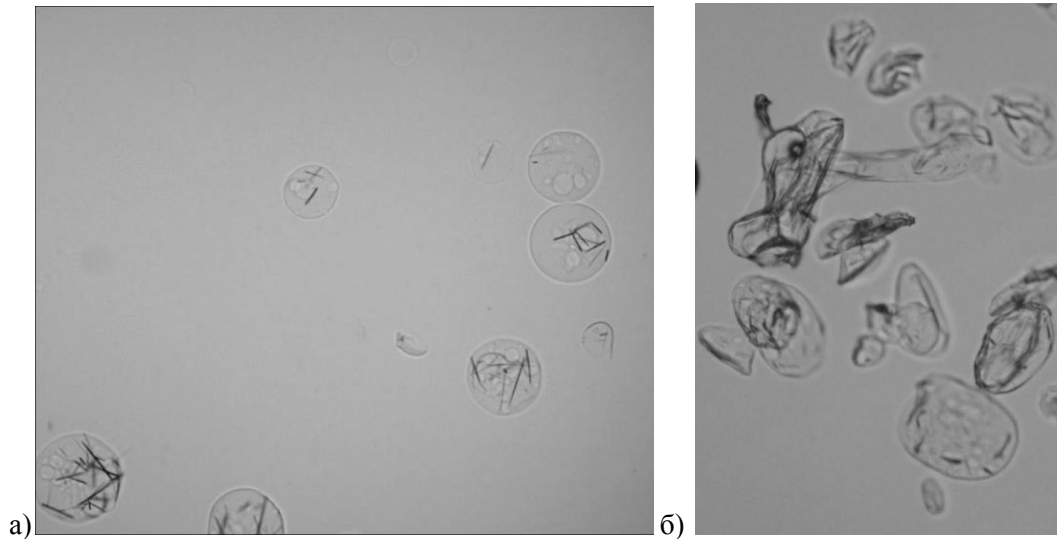


Рисунок 8 - Фотографии микрокапсул типа В (10х кратное увеличение). а – до сушки, б – после сушки.

Микрокапсулы типа С, полученные при двойном комплексобразовании между АЛГ-Na, Е100 и L30D-55 крупнее микрокапсул типа А и В в два раза, что можно объяснить формированием дополнительного слоя вокруг микрочастицы. Размер микрокапсул типа С составил 140 ± 19 мкм, при этом размер микрокапсул типа С не изменился после лиофильной сушки (140 ± 7 мкм). Форма частиц сферическая, слегка эллиптическая, поверхность гладкая, внутри видны кристаллы ИНД (рисунок 9).

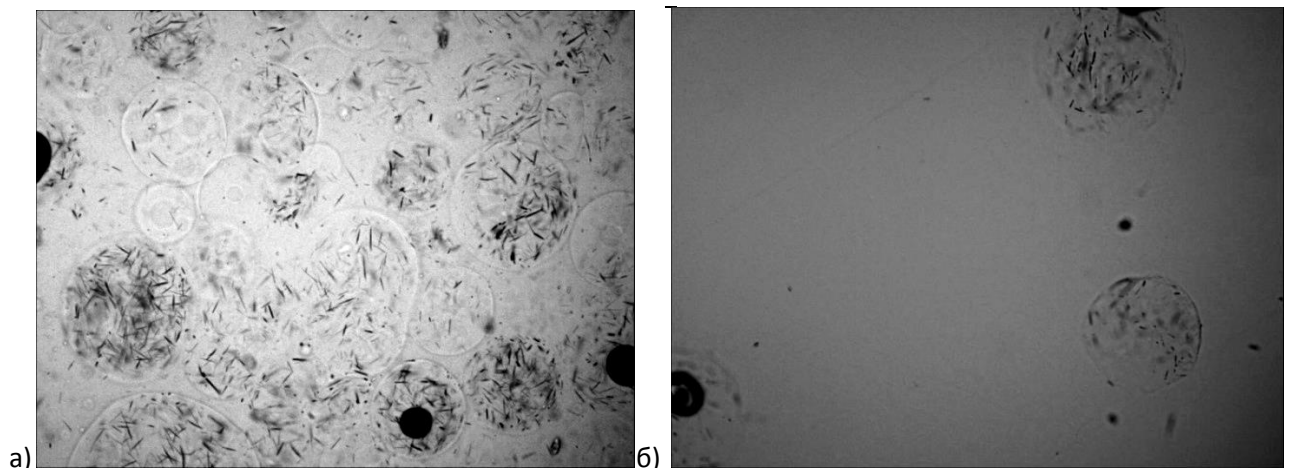


Рисунок 9 - Фотографии микрокапсул типа С (10х кратное увеличение). 1 – до сушки, 2 – после сушки.

3.3. Оценка инкапсуляционной эффективности и количественного содержания индометацина в микрокапсулах типов А, В и С

Эффективность инкапсуляции зависит как от молекулярной массы и растворимости лекарственного вещества, так и от свойств оболочки, главным образом от количества и размера пор [71, 81]. Эти факторы играют решающую роль при потере лекарственного вещества вследствие его диффузии в ретикуляционный раствор на стадии ретикуляции. Использование вспомогательных веществ уменьшающих размер пор в полимерной оболочке (например, плуроников) позволяет увеличить ЕЕ, % [72]. В процессе разработки технологии получения микрокапсул с индометацином методом ультразвукового распыления было установлено, что общепринятый метод получения микрочастиц с АЛГ-На путем его «сшивания» кальция хлоридом (микрочастицы типа А) не обеспечивает приемлемый уровень инкапсуляционной эффективности (ЕЕ, %). Так ЕЕ, % и количественное содержание индометацина в МК типа А составили $1,3 \pm 1,0$ % и $0,04 \pm 0,01$ % соответственно, несмотря на использование плуроника F127, уменьшающего размер пор геля АЛГ-На на поверхности микрокапсул [122]. Микрокапсулы типа В демонстрируют высокую эффективность инкапсулирования, равную 75 ± 1 %, при количественном содержании ИНД - $4,00 \pm 0,17$ %. В качестве «сшивающего агента» при получении микрокапсул типа В был использован раствор Е100. При этом было выявлено, что при повышении концентрации раствора Е100, эффективность инкапсуляции так же повышается. Нами были получены МК типа В при следующих концентрациях раствора Е100 : 0,1 %, 0,25 %, 0,5 %, 0,75 %, 1,0 %. Результаты по оценке инкапсуляционной эффективности микрокапсул типа В в зависимости от концентрации ретикуляционного раствора приведены в таблице 10.

Таблица 10 – Оценка эффективности инкапсуляции индометацина в МК типа В в зависимости от концентрации ретикуляционного раствора Е100.

№ п/п	Концентрация раствора Е100, %	Эффективность инкапсуляции, %
1	0,1	43±2
2	0,25	60±2
3	0,5	75±1
4	0,75	-
5	1,0	-

Как видно из таблицы наибольшая ЕЕ, % наблюдается при использовании 0,5 % раствора Е100. Следует отметить, что использование более высоких концентраций Е100 (0,75 и 1,0 %) приводило к образованию на поверхности раствора Е100 пены при его перемешивании, препятствующей эффективному распылению капсулообразующих растворов в раствор Е100. Увеличение ЕЕ, % при увеличении концентрации ретикуляционного раствора Е100 объясняется образованием более плотной оболочки микрокапсул, препятствующей выходу лекарственного вещества [122].

Введение в процесс получения микрокапсул второй стадии комплексообразования не влияет на эффективность инкапсуляции, что объясняется тем, что ИНД уже «заблокирован» в микрокапсулах после первой стадии комплексообразования. Так ЕЕ, % для микрокапсул типа С составила - 74±1%, а количественное содержание ИНД - 2,75±0,11 %.

Далее нами были исследовано высвобождение индометацина из микрокапсул типа В и С. Исследование микрокапсул типа А в дальнейшем не проводилось из-за низкой ЕЕ, % и количественного содержания ИНД.

3.4. Оценка кислотоустойчивости и высвобождения индометацина из микрокапсул типа В и С

В соответствии с методикой изложенной в главе 2 нами было оценено высвобождение ИНД из микрокапсул типов В и С в средах, имитирующих рН

желудка и кишечника. Так МК типа В характеризуются высвобождением 65% ИНД после 2 часов пребывания в среде растворения с рН 1,2 и полным высвобождением ИНД при повышении рН среды растворения до 6,8, что неприемлемо для систем с направленными в область кишечника (рисунок 10).

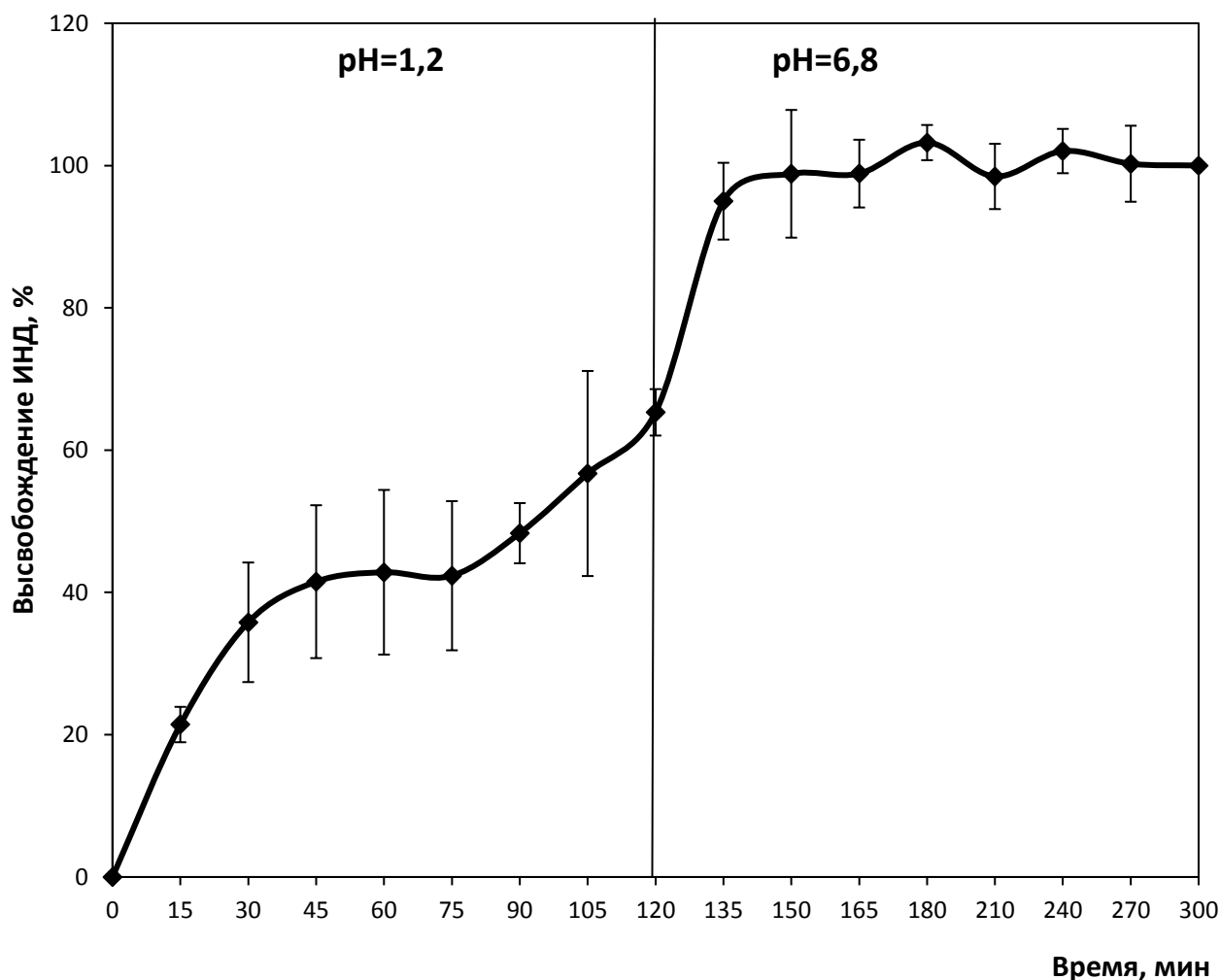


Рисунок 10 - Высвобождение ИНД из микрокапсул типа В.

Для придания МК типа В кислотоустойчивости нами была использована вторая стадия комплексообразования с использованием раствора L30D-55. При этом была подобрана оптимальная концентрация раствора L30D-55, при которой высвобождение ИНД в кислой среде не превысит 10 %. Зависимость высвобождения ИНД из МК типа С от концентрации L30D-55 показана на рисунке 11.

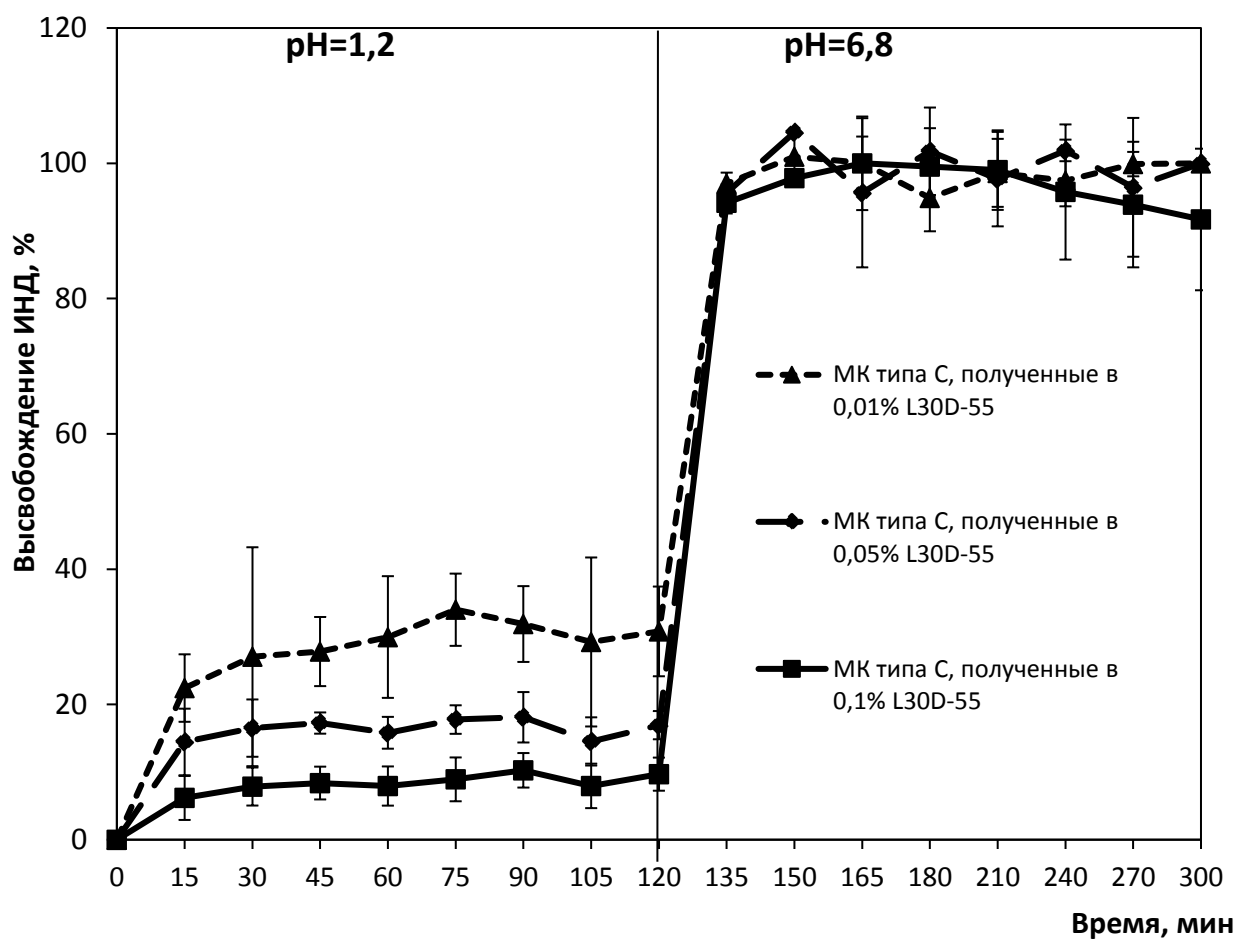


Рисунок 11 - Высвобождение ИНД из микрокапсул типа С, при различных концентрация L30D-55.

Как видно на рисунке 11, оптимальная концентрация раствора L30D-55, используемого при получении МК типа С составляет 0,1 %. При данной концентрации высвобождение ИНД из полученных МК в кислой среде не превышает 10 % после 2 часов пребывания в кислой среде, а в среде с pH = 6,8 ИНД полностью высвобождается в течение 30 минут. Таким образом, исследование кислотоустойчивости показало, что микрокапсулы типа В не могут быть использованы в качестве кишечнорастворимых систем, так как внешняя оболочка на основе комплекса E100 и АЛГ-На, не препятствует высвобождению индометацина в среде, имитирующей pH желудка. Далее нами были оценены структурные особенности МК типа С.

3.5. Оценка структурных особенностей микрокапсул типа С методом ДСК-МТ

В ходе работы методом ДСК-МТ были проанализированы индивидуальные компоненты МК типа С (результаты приведены в главе 2). На ДСК-термограммах микрокапсул типа С наблюдается смещение пика температуры плавления γ -формы индометацина со $161,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ на $151,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (рисунок 12), что обусловлено эндотермическим влиянием компонентов микрокапсул. Важно отметить, что данные ДСК-анализа подтверждают, что процесс получения микрокапсул с помощью ультразвукового распыления не оказывает влияния на исходную структуру компонентов микрокапсул. Кроме того сохранение кристаллической структуры субстанции индометацина косвенно подтверждают фотографии, полученных при исследовании размера и формы микрокапсул, на которых внутри микрокапсул видны рассеянные игольчатые кристаллы индометацина. Этот вывод также подтверждается данными ИК-спектроскопии, описанными ниже.

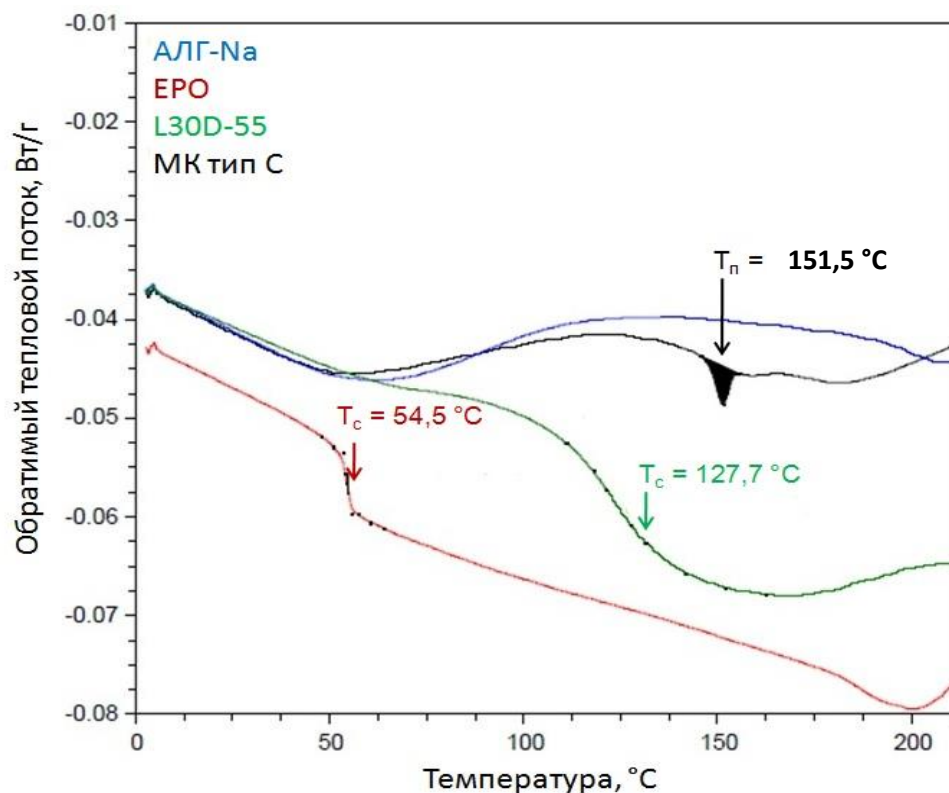


Рисунок 12 - ДСК-термограмма микрокапсул типа С в сравнении с ДСК-термограммами сополимеров E100, L30D-55 и АЛГ-На.

3.6. Оценка структурных особенностей микрокапсул типа С методом ИК-спектроскопии

Анализ полученных микрокапсул проводили путем сравнения ИК-спектра микрокапсул типа С с ИК-спектрами ЕРО, L30D-55, ИНД и АЛГ-Na.

ИК-спектры индивидуальных компонентов микрокапсул представлены в Приложении 1.

Наличие на ИК-спектрах микрокапсул типа С (рисунок 13) всех характеристических полос, соответствующих полосам индивидуальных компонентов (полосы при 1606 см^{-1} и 1408 см^{-1} – ассиметричные и симметричные валентные колебания карбоксилатных групп АЛГ-Na, полоса при 1691 см^{-1} – валентные колебания «амид I» ароматической амидной группы ИНД, полоса при 1730 см^{-1} – валентные колебания карбонильных групп Е100 и L30D-55), свидетельствует о включении их в состав МК. Кроме того, наличие в ИК-спектре характеристической полосы «амид I» ароматической амидной группы ИНД слабой интенсивности при 1691 см^{-1} , подтверждает тот факт, что ИНД не трансформируется в другую полиморфную форму, что согласуется с результатами ДСК-МТ.

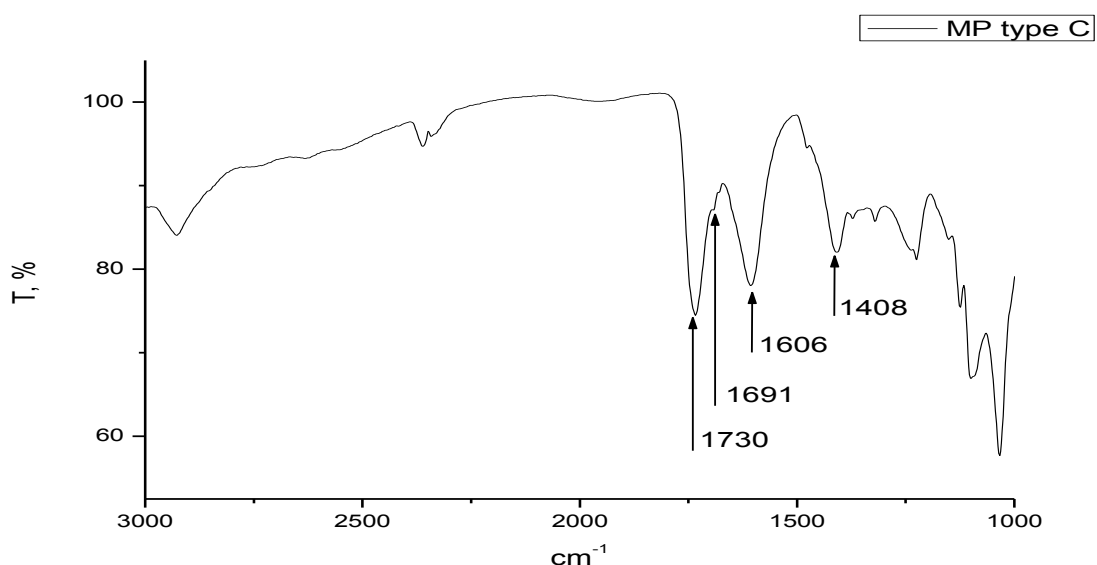


Рисунок 13 - ИК-спектр микрокапсул типа С. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

Более того, в [35] описано, что ионные взаимодействия между ионизированными карбоксильными группами ИНД и противоположно заряженными диметиламиногруппами Eudragit E в твердых дисперсиях можно идентифицировать по появлению на ИК-спектрах широкой полосы поглощения при 2479 см^{-1} , но в нашем случае мы этого не наблюдаем. Этот факт также подтверждает, что инкапсулированный ИНД не взаимодействует с E100 в полученных микрокапсулах. Эти результаты согласуются с данными термоанализа (на ДСК-термограммах присутствует пик плавления кристаллического ИНД). Более того, в данном случае мы имеем более сложную систему, в которой диметиламиногруппы E100 имеют возможность взаимодействовать с противоположно заряженными полианионами - альгинатом натрия и L30D-55. Так о взаимодействии карбоксильных групп альгината натрия с диметиламиногруппами Eudragit E100, можно судить по смещению характеристической полосы, соответствующей асимметричным валентным колебаниям карбоксилатных групп с 1600 см^{-1} (в ИК-спектре чистого альгината натрия) на 1606 см^{-1} (в ИК-спектре микрокапсул типа С). Полученные результаты согласуются с исследованиями [150,151], в которых описано появление характеристической полосы на 1609 см^{-1} при образовании ионных связей с участием карбоксильных групп альгината натрия.

Кроме того, полосы, соответствующие неионизированным диметиламиногруппам E100 (2770 и 2820 см^{-1}) исчезают в микрокапсулах типа С, что косвенно свидетельствуют о их взаимодействии с противоположно заряженными карбоксильными группами L30D-55 и АЛГ-Na.

3.7. Технологическая схема получения кишечнорастворимых микрокапсул

На основе проведенных исследований нами предложена технологическая схема получения кишечнорастворимых микрокапсул, изображенная на рисунке 14.

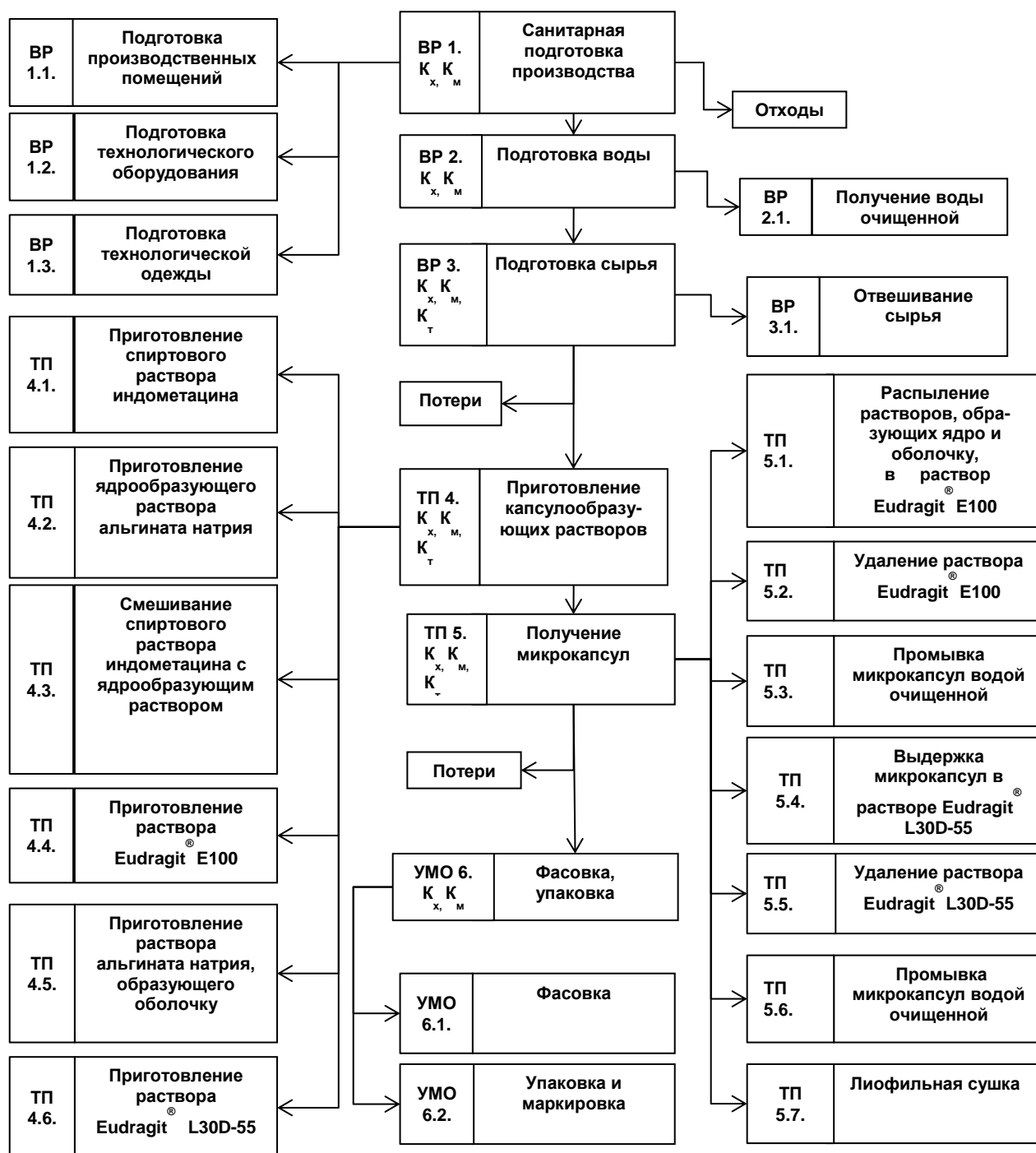


Рисунок 14 - Технологическая схема получения кишечнорастворимых микрокапсул.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что индометацин в кристаллическом виде успешно инкапсулирован в кишечнорастворимые микрокапсулы, имеющие ядро альгината натрия и оболочку на основе интерполиэлектролитного комплекса между E100, АЛГ-Na и L30D-55[57, 92]. Однако полученные микрокапсулы не обеспечивают пролонгированного высвобождения ИНД и являются кишечнорастворимой ЛФ.

ГЛАВА 4. Получение и физико-химическое исследование полимер-лекарственных и интерполиэлектролит-лекарственных комплексов с индометацином на основе Eudragit®RL30D, Eudragit®EPO и Eudragit®S100

Для получения пролонгированной ЛФ индометацина далее была исследована возможность его включения в состав полимер-лекарственных комплексов ходе ИПЭР при смешивании водно-солевых растворов исследуемых сополимеров и индометацина.

4.1. Гравиметрическое исследование ПЛК RL/ИНД

После проведения гравиметрического анализа осадков, полученных при смешивании растворов ЛВ и дисперсии полимера в различных соотношениях, нами были получены результаты, продемонстрированные на рисунке 15.

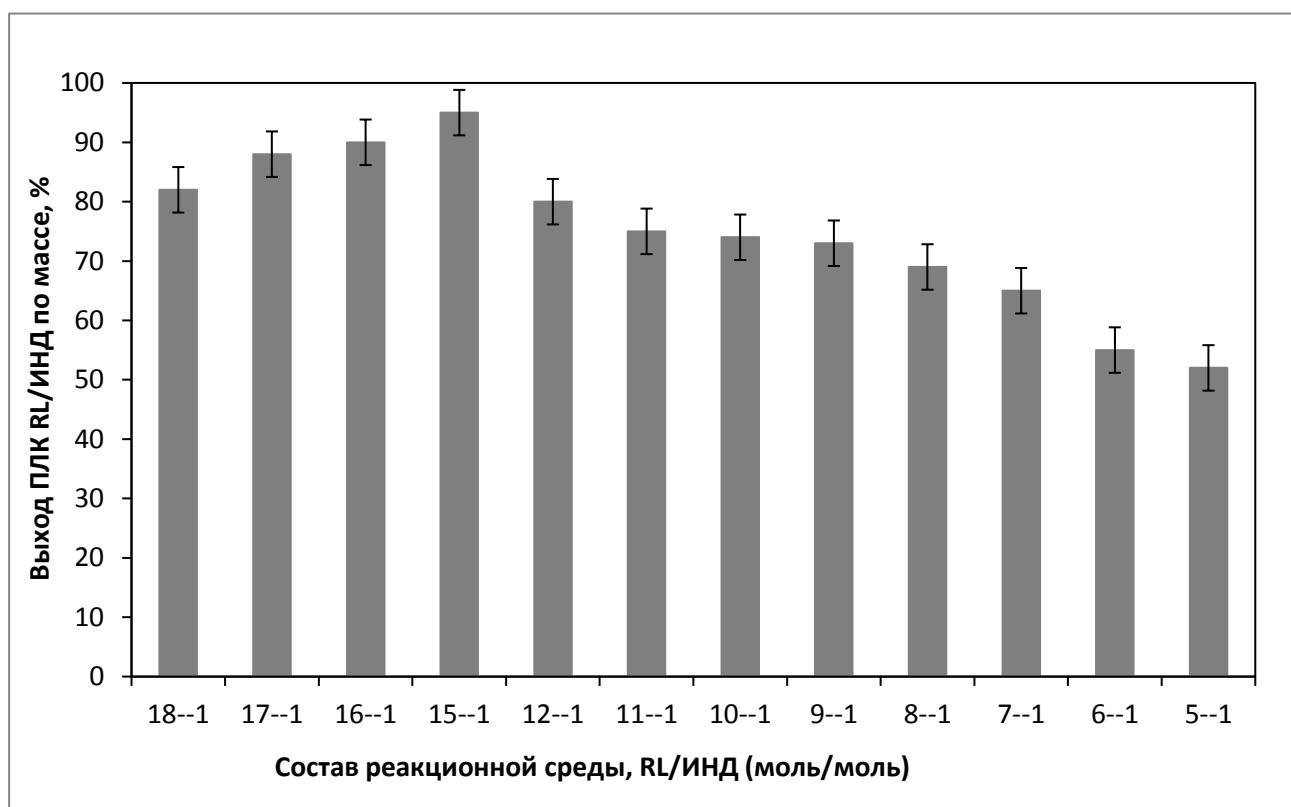


Рисунок 15 - Зависимость выхода полимер-лекарственного комплекса RL/ИНД от состава реакционной среды.

Как видно, прирост в массе осадка является максимальным для состава реакционной смеси 15:1 с избытком Eudragit®RL30D.

4.2. Исследование степени взаимодействия RL30D и ИНД

С целью определения соотношения реагирующих компонентов, при котором эффективность связывания ИНД с RL была максимальной, нами были исследованы образцы надосадочной жидкости методом УФ-спектрофотометрии, на предмет количественного содержания в ней ИНД. Определив количество свободного ИНД, мы вычислили количество ИНД вступившего во взаимодействие с RL. На рисунке 16 представлена зависимость количества ИНД в процентах, прореагировавшего с RL30D, от состава реакционной среды.

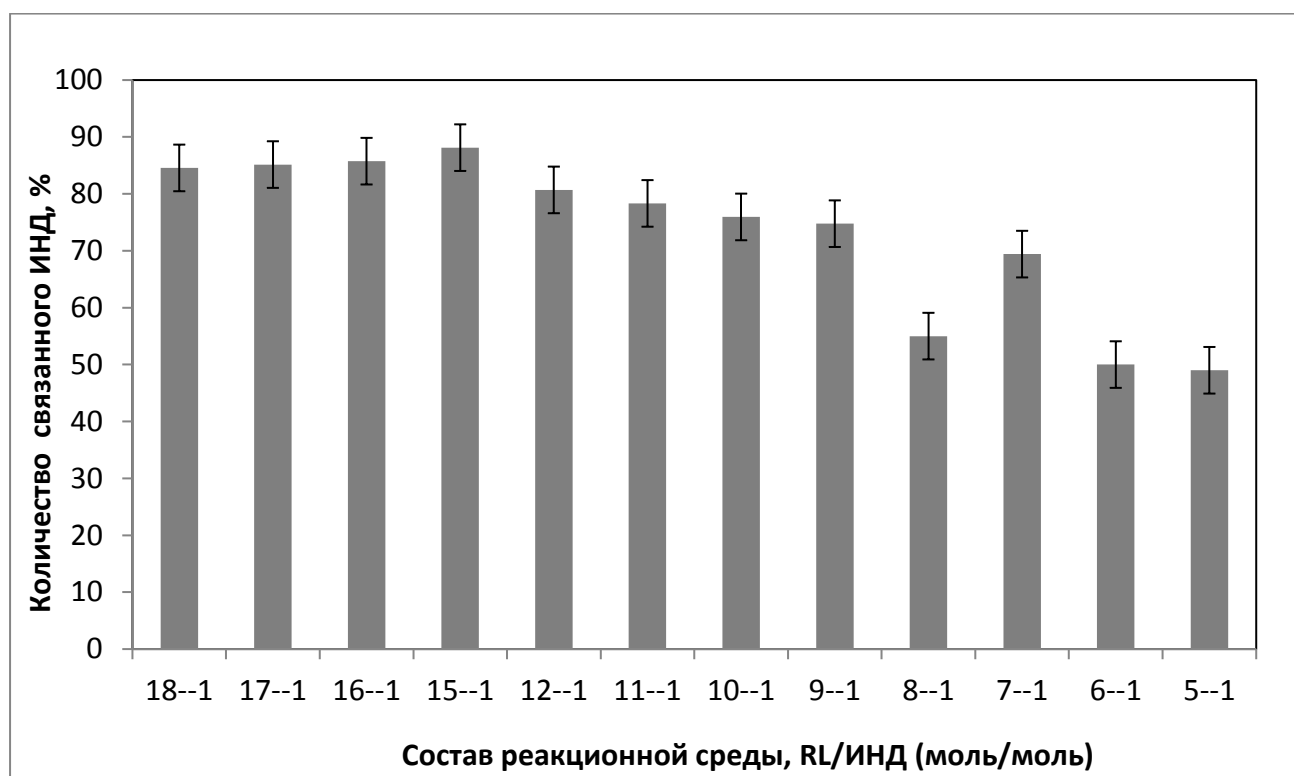


Рисунок 16 - Зависимость эффективности включения ИНД в ПЛК от состава реакционной среды.

Как видно из полученных данных оптимальным соотношением для синтеза ПЛК RL/ИНД является соотношение 15:1 (Eudragit® RL/ИНД, моль/моль), что также согласуется с результатами гравиметрического анализа.

4.3. Исследование структурных особенностей ПЛК RL/ИНД состава 15:1, методом ИК-спектроскопии

Анализ ИК-спектров ПЛК RL/ИНД проводили в сравнении с физической смесью аналогичной по составу и индивидуальными компонентами - RL и ИНД (ИК-спектры представлены в главе 2).

ИК-спектр ПЛК RL/ИНД 15:1 (рисунок 17) в отличие от ИК-спектра физической смеси (рисунок 18) аналогичного состава отличается наличием широкой полосы при 1591 см^{-1} , что говорит об образовании межмолекулярных ионных связей между ионизированными карбоксильными группами ИНД и четвертичными аммониевыми группами RL. Кроме того следует отметить смещение характеристической полосы индометацина, соответствующей валентным колебаниям «амид I» ароматической амидной группы, от 1691 см^{-1} (в спектре физической смеси) до 1682 см^{-1} (в спектре ПЛК), что свидетельствует о его переходе из кристаллической формы ИНД в аморфную форму [137].

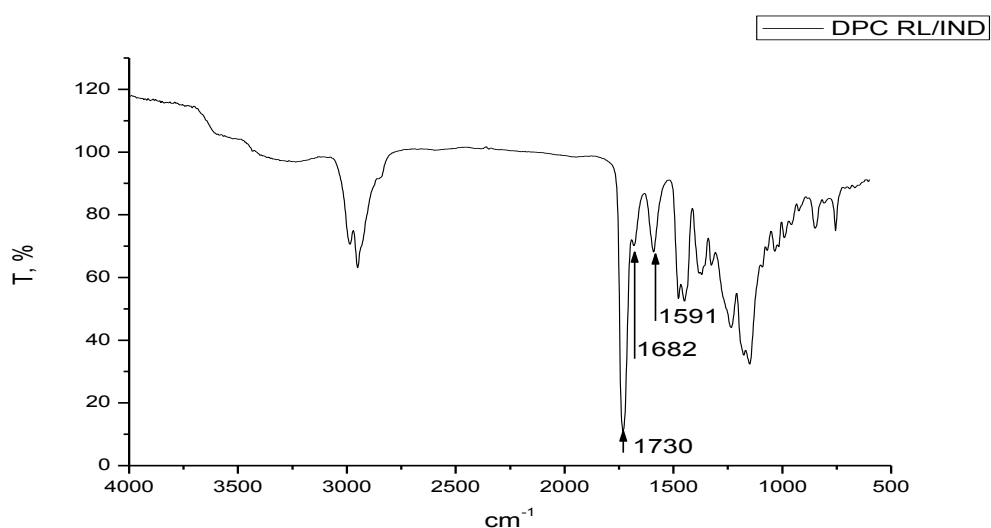


Рисунок 17 - ИК-спектр ПЛК RL/ИНД. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

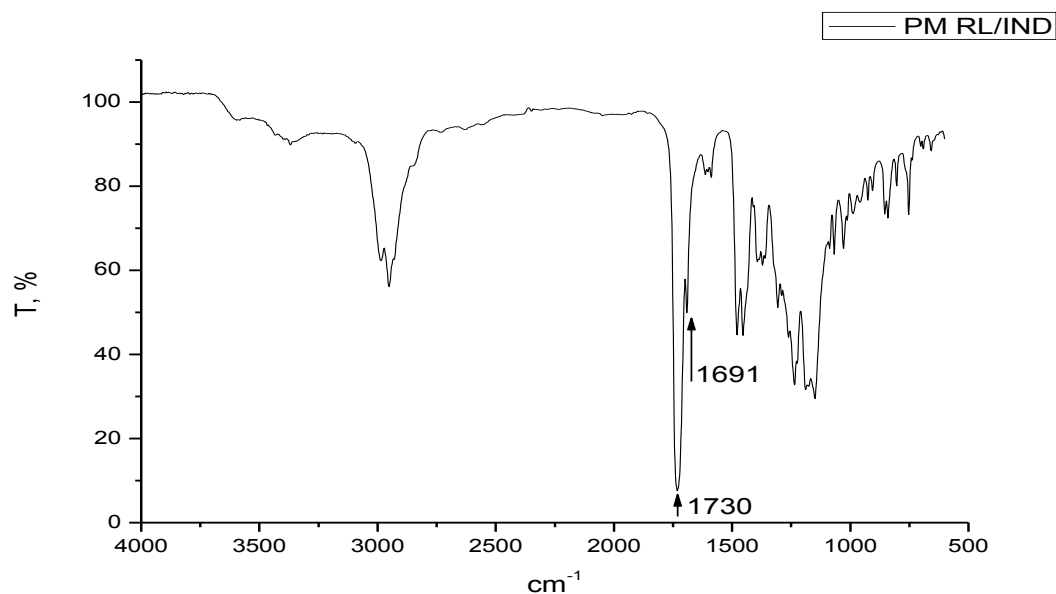


Рисунок 18 - ИК-спектр ФС RL/ИНД. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

4.4. Исследование структурных особенностей ПЛК RL/ИНД состава 15:1 методом ДСК-МТ

Для оценки химической однородности и совместимости компонентов ПЛК нами был использован метод ДСК-МТ.

Появление одной T_c при 71,0 °С в случае синтезированных образцов полимер-лекарственного комплекса (рисунок 11, Приложение 1) говорит о совместимости компонентов в составе поликомплексов, что является следствием полимер-лекарственного взаимодействия, доказывает структурную однородность без макромолекулярных включений индивидуальных компонентов ПЛК и полноту протекания реакции.

4.5. Оценка размера и дзета-потенциала частиц ПЛК RL/ИНД

Размер полученных частиц составил $7,94 \pm 0,96$ мкм. Полидисперсный индекс равен 0,188, что свидетельствует об однородности микрочастиц по размеру. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что ПЛК RL/ИНД 15:1 является микроразмерной системой.

Дзета-потенциал частиц ПЛК RL/ИНД 15:1 составил $17,20 \pm 2,16$ мВ. Положительный заряд поверхности частиц ПЛК указывает на преимущественное расположение положительно заряженного RL на поверхности частиц.

4.6. Физико-химическое исследование взаимодействия Eudragit® EPO и Eudragit® S100

4.6.1. Получение интерполиэлектrolитного комплекса Eudragit® EPO/Eudragit® S100

Синтез ИПЭК EPO/S100 осуществляли путем капельного добавления раствора EPO к раствору S100, аналогично методике получения ИПЭК описанной в главе 2.

В ходе работы нами были синтезированы интерполиэлектrolитные комплексы EPO/S100 при различном составе реакционной среды и при двух порядках смешивания растворов исследуемых полиэлектролитов.

Выход полученных осадков был оценен гравиметрически после центрифугирования при 5000 об /мин и сушки под вакуумом (вакуум-мушильный шкаф VD 23, Binder, Германия) в течение 2 дней при 40 °С до постоянного веса. С оставшейся после центрифугирования надосадочной жидкостью был проведен визкозиметрический анализ.

4.6.2. Визкозиметрический анализ надосадочной жидкости

Так как образование интерполиэлектrolитных комплексов сопровождается выделением их в нерастворимый осадок, то за протеканием ИПЭР можно проследить по изменению вязкости надосадочной жидкости [17].

После завершения интерполиэлектrolитной реакции в реакционной смеси образуются две фазы: осадок, состоящий из ИПЭК и раствора, содержащего исходные полимеры не включенный в поликомплекс, которые обуславливают вязкость надосадочной жидкости. Таким образом, минимальное значение вязкости будет свидетельствовать о том, что ИПЭР при данном соотношении

реакционной среды протекает наиболее полно, то есть количество исходных полимеров максимально включено в состав ИПЭК.

Зависимость относительной вязкости надосадочной жидкости от состава реакционной среды приведена на рисунке 19.

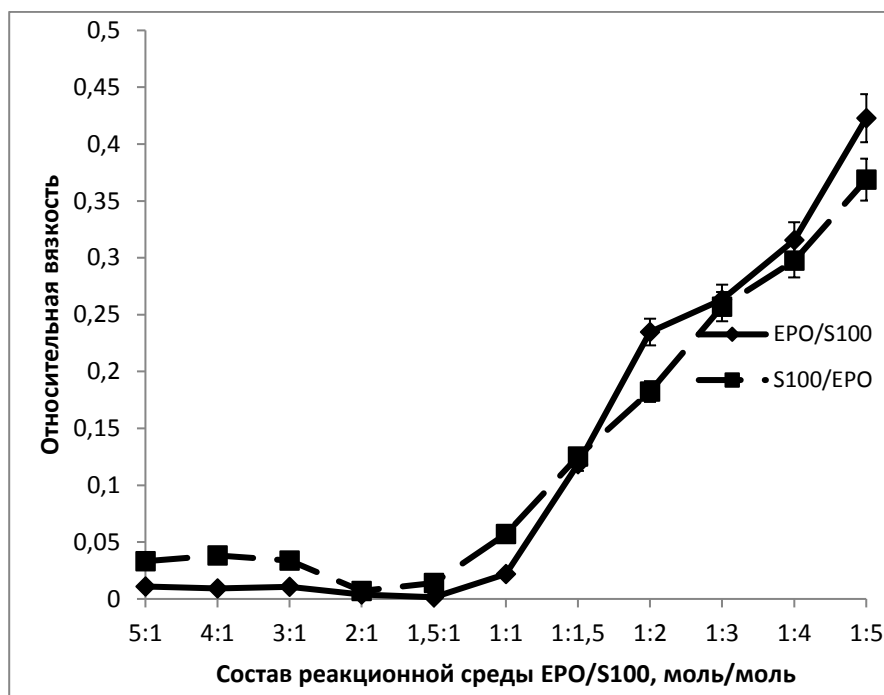


Рисунок 19 - Зависимость относительной вязкости надосадочной жидкости от состава реакционной среды.

В растворах, где количественно преобладал EPO, вязкость оставалась минимальной, а при повышении содержания S100 в составе реакционной среды, вязкость надосадочной жидкости увеличивалась. В ходе анализа было показано, что на вязкость надосадочной жидкости влияет порядок смешивания растворов полиэлектролитов. Так при добавлении раствора EPO к раствору S100 минимальное значение вязкости наблюдается при мольном отношении EPO/S100 1,5:1, а при обратном порядке смешивания при соотношении 2:1. Минимальное значение вязкости в этих точках свидетельствуют о том, что интерполиэлектролитная реакция прошла наиболее полно, т.е. эти точки являются точками стехиометрии.

4.6.3. Гравиметрическое исследование ИПЭК ЕРО/S100

Гравиметрический анализ осадка полученных ИПЭК показал, что независимо от порядка смешивания растворов полиэлектролитов наибольший выход ИПЭК наблюдается при мольных соотношениях ЕРО/S100 2:1, 1,5:1, 1:1 (рисунок 20). Минимальное значение вязкости и максимальные выходы осадков ИПЭК в точках, соответствующих составу реакционной смеси Eudragit® ЕРО/S100 2:1, 1,5:1 и 1:1, свидетельствуют о том, что интерполиэлектролитная реакция при данных соотношениях полимеров проходит наиболее полно, т.е. эти точки являются точками стехиометрии.

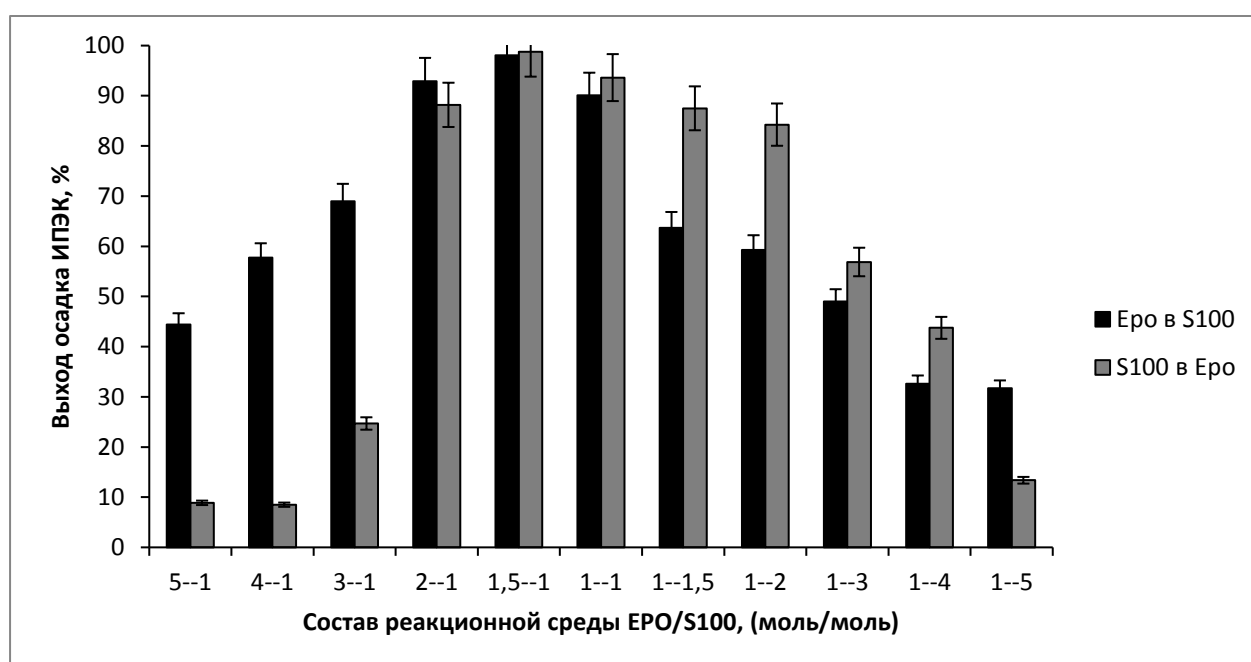


Рисунок 20 - Зависимость выхода ИПЭК по массе от состава реакционной среды ЕРО/S100 и порядка смешивания.

4.6.4. Элементный органический анализ ИПЭК Eudragit® ЕРО/S100

Поскольку только один из полимеров - ЕРО содержит в своей структуре азот, то, зная массовую долю азота, содержащегося в ИПЭК, мы можем оценить степень включения ЕРО в ИПЭК и выяснить точный состав изучаемого поликомплекса. Для проведения элементного анализа нами были отобраны шесть образцов, полученных при двух порядках смешивания и соотношении исходных сополимеров: 2:1, 1,5:1, 1:1.

Данные элементного анализа, представленные в таблице 11, говорят о том, что исследуемые полиэлектролиты взаимодействуют в соотношениях близких исходным. При этом наиболее близким к стехиометрическому составу является ИПЭК синтезированный при соотношении компонентов реакционной среды 1,5:1, независимо от порядка смешивания растворов сополимеров.

Таблица 11 - Характеристика синтезированных ИПЭК по данным элементного анализа

Соотношение исходных сополимеров ЕРО:S100	Состав ИПЭК			
	Z= [ЕРО]/[S100]		ЕРО:S100 (по молям)	
	ЕРО в S100	S100 в ЕРО	ЕРО в S100	S100 в ЕРО
1:1	1,56	1,32	1:0,64	1:0,76
1,5:1	1,18	1,08	1:0,85	1:0,93
2:1	2,7	1,23	1:0,37	1:0,81

Таким образом, соотношение исходных компонентов Eudragit® ЕРО/S100 1,5:1, независимо от порядка смешивания, является оптимальным для синтеза ИПЭК на основе изучаемой пары полимеров. Следует отметить, что данные элементного анализа согласуются с представленными выше результатами вискозиметрии и гравиметрии.

4.6.5. Исследование структурных особенностей ИПЭК ЕРО/S100 методом ИК – спектроскопии.

Для исследования структуры полученного нами ИПЭК был использован метод ИК-спектроскопии. Анализ ИПЭК, полученных при различном составе реакционной среды и двух порядках смешивания, проводили в сравнении с физической смесью аналогичной по составу и индивидуальными полимерами. Так, не зависимо от соотношения и порядка смешивания, ИК-спектры полученных полимеров характеризуются наличием полос при 1560 см⁻¹

(рисунок 21), что свидетельствует об образовании межмолекулярных ионных связей между ионизированными карбоксильными группами S100 и протонированными диметиламиногруппами EPO, и согласуется с данными литературы [29, 30, 158].

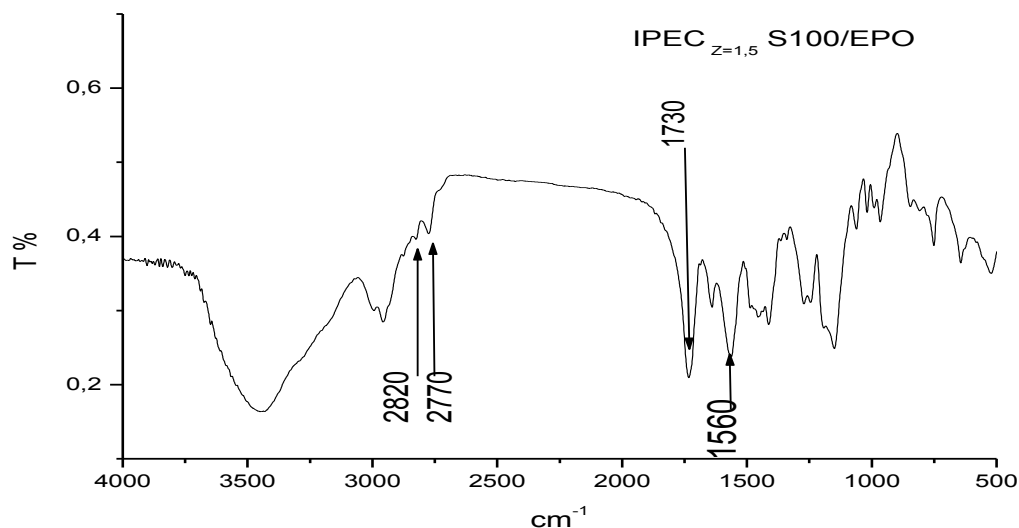


Рисунок 21 – ИК-спектр ИПЭК EPO/S100 1,5:1. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

4.6.6. Исследование структурных особенностей ИПЭК EPO/S100 методом ДСК-МТ

Для оценки химической однородности и совместимости компонентов ИПЭК в сравнении с ФС, нами был использован метод ДСК-МТ. Наличие двух неизменных T_c в ФС свидетельствует о фазовом разделении сополимеров, т.е. подтверждает их несовместимость в рамках рассматриваемой бинарной смеси. В то же время, появление одной T_c в случае синтезированного образца говорит о совместимости компонентов в составе поликомплекса, что является следствием интерполиэлектролитного взаимодействия и доказывает структурную однородность без макромолекулярных включений индивидуальных сополимеров. ДСК-термограммы ИПЭК EPO/S100 и физической смеси аналогичного состава приведены на рисунках 12 и 13, Приложение 1. Обобщенные результаты ДСК-МТ приведены в таблице 12.

Таблица 12 – температуры стеклования ИПЭК ЕРО/S100 полученных при различном составе реакционной среды, физической смеси и индивидуальных компонентов ИПЭК.

№ п/п	Образец	Соотношение ЕРО:S100	T _с , °С
1	ИПЭК ЕРО/S100	2:1	98,34
2	ИПЭК ЕРО/S100	1,5:1	118,63
3	ИПЭК ЕРО/S100	1:1	119,61
4	S100	-	173,35
5	ЕРО	-	52,10
6	ФС ЕРО/S100	1,5:1	55,03; 171,44

4.6.7. Изучение кинетики набухания ИПЭК ЕРО/S100

Принимая во внимание фармацевтическую направленность наших исследований, следующим этапом нашей работы явилось изучение диффузионно-транспортных свойств полученного ИПЭК, в сравнении с физическими смесями аналогичного состава и индивидуальными полимерами.

В нашей работе мы изучали кинетику набухания ИПЭК, полученных при соотношении ЕРО/S100 1,5:1 при двух порядках смешивания, в средах имитирующих ЖКТ (7 часов), в сравнении с индивидуальными полимерами и физическими смесями состава ЕРО/S100 2:1, 1:1 и 1:2.

Исходные полимеры растворяются в зависимости от рН среды.

Матрицы таблеток, приготовленных на основе физических смесей, так же не выдерживали условий эксперимента. Так физическая смесь ЕРО/S100 2:1 распалась и растворилась после 45 мин в растворе хлористоводородной кислоты. Таблетки на основе физических смесей ЕРО/S100 1:1 и 1:2, также распались в среде хлористоводородной кислоты на отдельные мелкие фрагменты, которые полностью растворились в среде фосфатного буфера с рН 7,4.

В условиях, имитирующих pH ЖКТ, кинетика набухания поликомплексов характеризуется специфичностью. Профиль набухания таблетированных матриц на основе ИПЭК ЕРО/S100 состава 1,5:1, полученных при различных порядках смешивания представлен на рисунке 22. Как видно, характер набухания поликомплексных матриц полученных при различных порядках смешивания достаточно близок и характеризуются pH-чувствительностью.

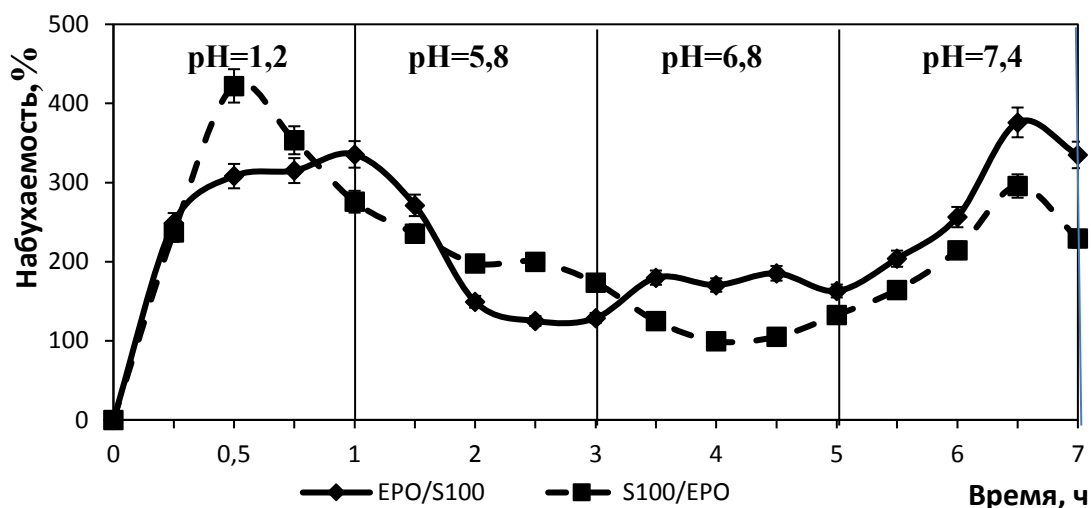


Рисунок 22 - Профиль набухания таблетированных матриц ИПЭК ЕРО/S100 и ИПЭК S100/ЕРО, состава 1,5:1.

Однако, во время эксперимента оказалось, что матрицы таблеток, стаблетированных из ИПЭК, полученного при добавлении S100 в ЕРО, распадаются в кислой среде на мелкие гранулы, которые впоследствии не растворялись. Таблетки, стаблетированных из ИПЭК, полученного при добавлении ЕРО в S100, не растворяются и не дезинтегрируются в средах имитирующих ЖКТ, причем устойчивость таблетированной матрицы сохраняется после эксперимента в среде с pH 7.4 даже после 24 часов при температуре 37 °С.

С целью выявления внутриматричных структурных изменений нами был использован метод ИК-спектроскопии высушенных таблеток. На рисунках 14, 15(а,б), Приложения 1, представлены спектры происходящих структурных преобразований. Не смотря на различный порядок смешивания, ИК-спектры полученных образцов имеют схожую структуру.

Так после кислой среды и среды фосфатного буфера с рН 5,8 происходит разрушение системы межмолекулярных ионных связей. Однако, затем, по мере роста рН они восстанавливаются. Следует отметить, что с увеличением рН уменьшается и доля участвующих в образовании интерполимерных связей реакционно-способных групп. Кроме того, по мере роста рН наблюдается усиление интенсивности полос, соответствующих присутствию неионизированных диметиламиногрупп (2770 и 2820 см^{-1}), что вполне закономерно, т.к. плотность заряда цепочек макромолекул ЕРО закономерно снижается. Таким образом, можно сделать вывод, что синтезированный ИПЭК является самовосстанавливающейся системой.

Таким образом, согласно результатам гравиметрического, вискозиметрического и элементного анализа стехиометрическим является соотношение Eudragit® ЕРО : S100 – 1,5 : 1. По результатам ИК-спектроскопии и ДСК-МТ, синтезированные поликомплекс стабилизированы кооперативной системой солевых связей и не содержит микродоменов свободных сополимеров и представляет собой индивидуальное соединение. Кинетика набухания поликомплексных матриц характеризуется выраженной рН –чувствительностью и устойчивостью в условиях, имитирующих продвижение по ЖКТ (в интервале рН=1,2-7,4), в отличие от индивидуальных сополимеров и их физических смесей. Проведенный мониторинг структурных и композиционных изменений, происходящих в поликомплексных матрицах в процессе набухания в средах, имитирующих продвижение по ЖКТ, свидетельствует о том, что синтезированный ИПЭК является самовосстанавливающейся системой.

Следующим этапом нашей работы стало исследование взаимодействия между ЕРО и ИНД.

4.7. Гравиметрическое и УФ-спектрофотометрическое исследование ПЛК ЕРО/ ИНД

На рисунке 23 представлена зависимость прироста в массе осадка ПЛК и количество ИНД связанного с ПЛК от состава реакционной среды ЕРО/ИНД.

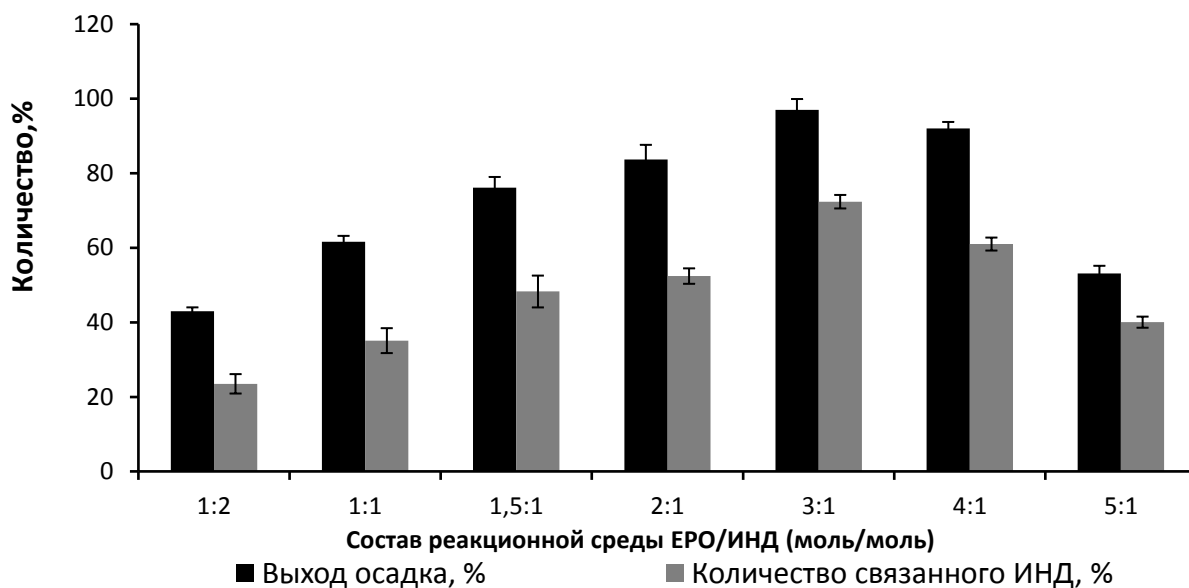


Рисунок 23 - Зависимость выхода ПЛК ЕРО/ИНД по массе и количества связанного индометацина от состава реакционной среды и порядка смешивания.

Как видно, максимальный прирост в массе осадка и максимальное количество связанного ИНД наблюдается при составе реакционной смеси 3:1 с избытком Eudragit®ЕРО.

Обобщив данные по физико-химическому исследованию ИПЭК ЕРО/S100, полученного при рН = 7,0, и по гравиметрическому и УФ-спектрофотометрическому анализу ПЛК ЕРО/ИНД, нами был выполнен синтез интерполиэлектролит-лекарственного комплекса (ИПЭЛК) с участием ЕРО, S100 и ИНД.

4.8. Исследование взаимодействия индометацина с сополимерами Eudragit® ЕРО и Eudragit® S100

4.8.1. Гравиметрическое и УФ-спектрофотометрическое исследование ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД в водно-солевых средах

На рисунке 24 представлена зависимость прироста в массе осадка ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД и количество связанного с ИПЭЛК индометацина от состава реакционной среды для системы ЕРО/S100/ИНД.

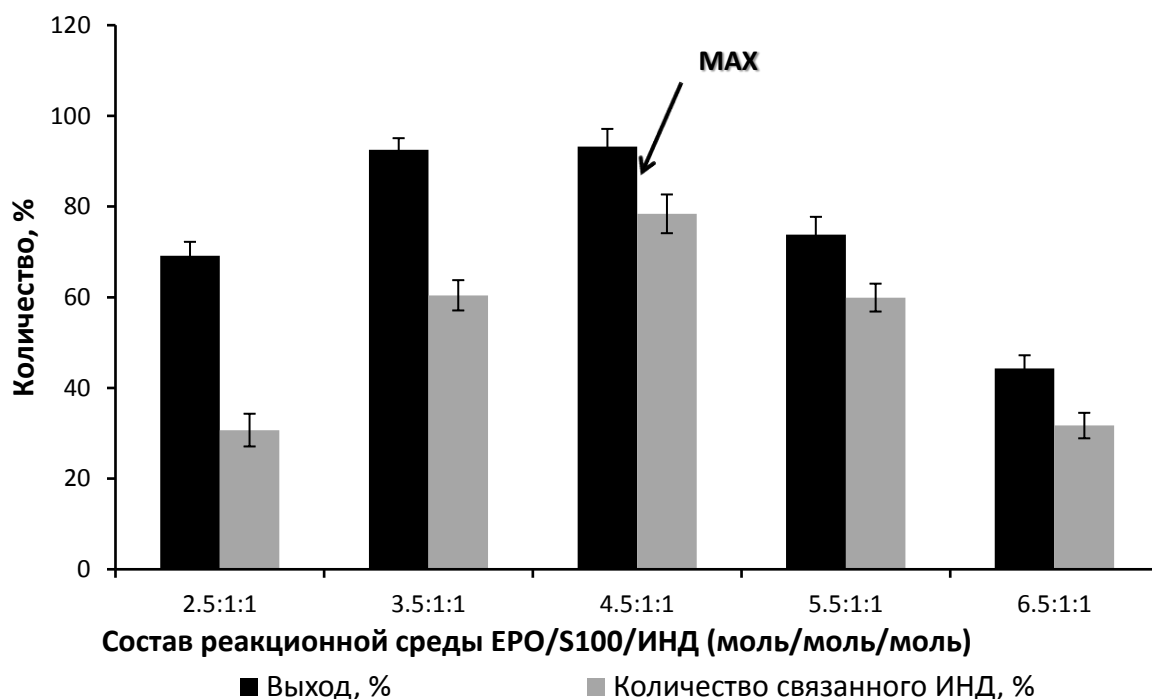


Рисунок 24 - Зависимость выхода ИПЭЛК Eudragit®ЕРО/S100/ИНД по массе и количества связанного с ИПЭЛК индометацина от состава реакционной среды.

Как видно, максимальный прирост в массе осадка и максимальное количество связанного ИНД наблюдается при составе реакционной среды ЕРО/S100/ИНД - 4,5:1:1. Полученные результаты согласуются с данными полученными при проведении гравиметрического и УФ-спектрофотометрического анализа, а так же с предшествующим исследованиям по взаимодействию ЕРО с S100 и ЕРО с ИНД. При этом количество вступившего во взаимодействие ИНД достигает 75,6-78,4 %.

4.8.2. Вискозиметрическое исследование ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД

Для подтверждения образования ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД стехиометрического состава при соотношении реакционной смеси 4,5:1:1 в дополнение к гравиметрическому исследованию и УФ-спектрофотометрическому анализу нами была проведена оценка относительной вязкости надосадочной жидкости, после отделения нерастворимых осадков образующихся комплексов.

На рисунке 25 представлена зависимость вязкости надосадочной жидкости ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД от состава реакционной смеси в водно-солевой среде.

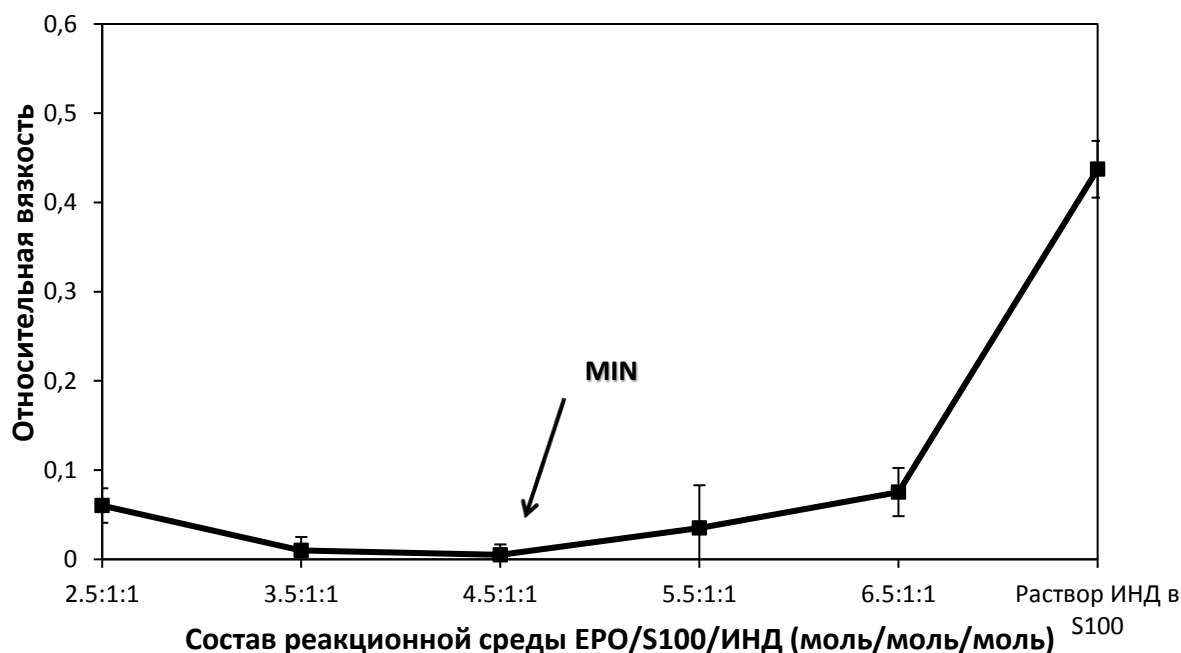


Рисунок 25 - Зависимость относительной вязкости надосадочной жидкости ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД от состава реакционной среды.

Специфическая вязкость супернатанта определяли с использованием вискозиметра Уббелодде (Schott®, Германия) при температуре $25,0 \pm 0,1$ °С.

Как видно из рисунка минимальная относительная вязкость супернатанта наблюдается при составе реакционной среды ЕРО/S100/ИНД - 4,5:1:1. Таким образом, минимальное значение вязкости надосадочной жидкости при данном составе реакционной среды свидетельствует о том, что реакция протекает наиболее полно, то есть количество исходных полимеров максимально включено в состав ИПЭЛК. Полученные результаты согласуются с гравиметрическим и УФ-спектрофотометрическим анализом.

4.8.3. Элементный органический анализ

ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1

Для определения фактического состава образующегося продукта нами был проведен метод элементного органического анализа с определением количественного содержания углерода, водорода и азота в полученных продуктах. Учитывая, что из трех взаимодействующих компонентов азот

содержится в составе макромолекул ЕРО и индометацине, по массовой доле азота в образце и по загрузке ИПЭЛК индометацином можно судить о количестве включенного в состав противоположно заряженного S100. Данные элементного органического анализа для ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1, а также физической смеси аналогичного состава приведены в таблице 13.

Таблица 13 - Содержание N в ФС и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД по данным элементного анализа

№ п/п	Образец	Доля элемента по данным элементного анализа, %			Содержание ИНД, %	Состав ФС и ИПЭЛК, Z=ЕРО/S100/ИНД, (моль/моль/моль)
		С	Н	Н		
1	ФС ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	62,19	8,15	3,73	19,93	4,50:1,00:1,00
2	ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	61,65	8,47	3,75	15,69	4,97:1,00:0,82

Как видно из полученных результатов, образец ИПЭЛК характеризуется избыточным содержанием поликатиона по сравнению с модельной физической смесью. Фактическое соотношение компонентов ЕРО:S100:ИНД в полученном продукте отлично от модельной смеси и составляет 4,97:1,00:0,82. Полученные результаты можно объяснить тем, что при данном составе реакционной среды ИПЭЛК обогащается менее ионизированным ЕРО. При этом полимерные цепи ЕРО при значении рН реакционной среды 7,0 находятся в «сжатом» состоянии, что затрудняет проникновение низкомолекулярного ИНД в «дефектные области» к реакционно-способным звеньям. При дальнейшем исследовании структурных особенностей ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД в качестве эталона использовалась ФС ЕРО/S100/ИНД состава 4,97:1,00:0,82.

4.8.4. Исследование структурных особенностей ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД состава 4,5:1:1 методом ИК-спектроскопии

Анализ ИК-спектров ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 проводили в сравнении с индивидуальными полимерами, лекарственным веществом и физической смесью аналогичного состава. ИК-спектры индивидуальных полимеров и индометацина приведены в Приложении 1. Физические смеси (ФС) получали механическим смешиванием ЕРО, S100 и ИНД при соотношении 4,5:1:1.

На ИК-спектре физической смеси (рисунок 26) присутствует все полосы характерные для индивидуальных компонентов, при этом следует отметить полосу при 1691 см^{-1} , соответствующую колебаниям «амид I» амидной группы γ -формы индометацина [137]. На рисунке 27 и 28 представлены ИК-спектры ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1.

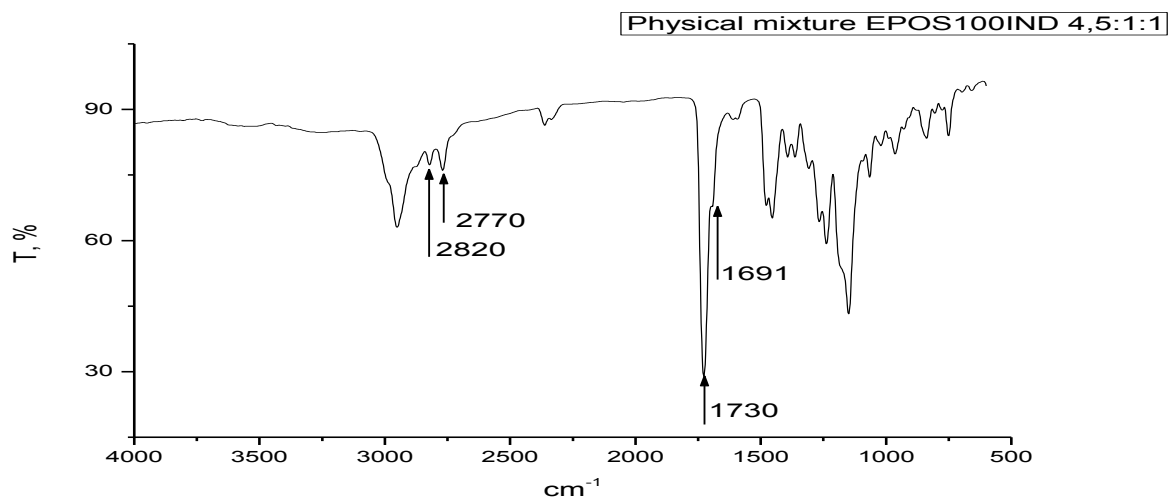


Рисунок 26- ИК-спектр ФС ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

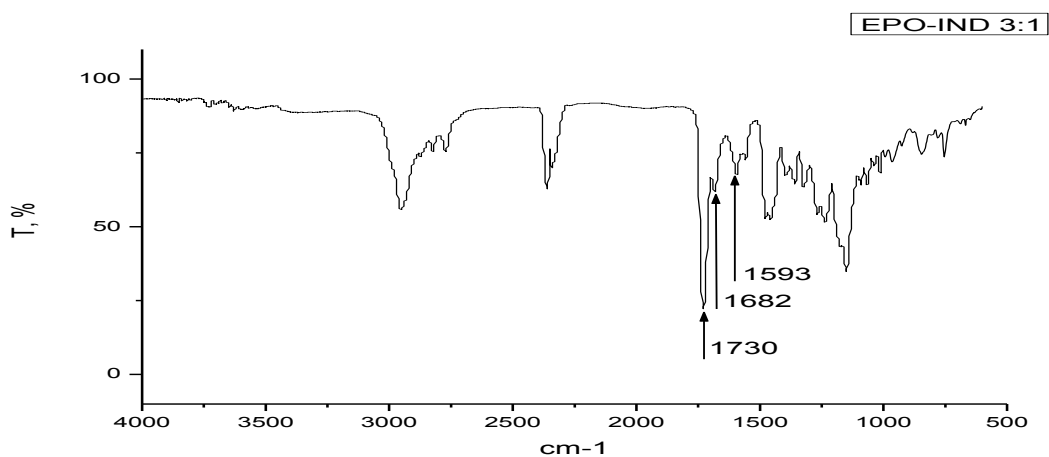


Рисунок 27 - ИК-спектр ПЛК ЕРО/ИНД 3:1. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

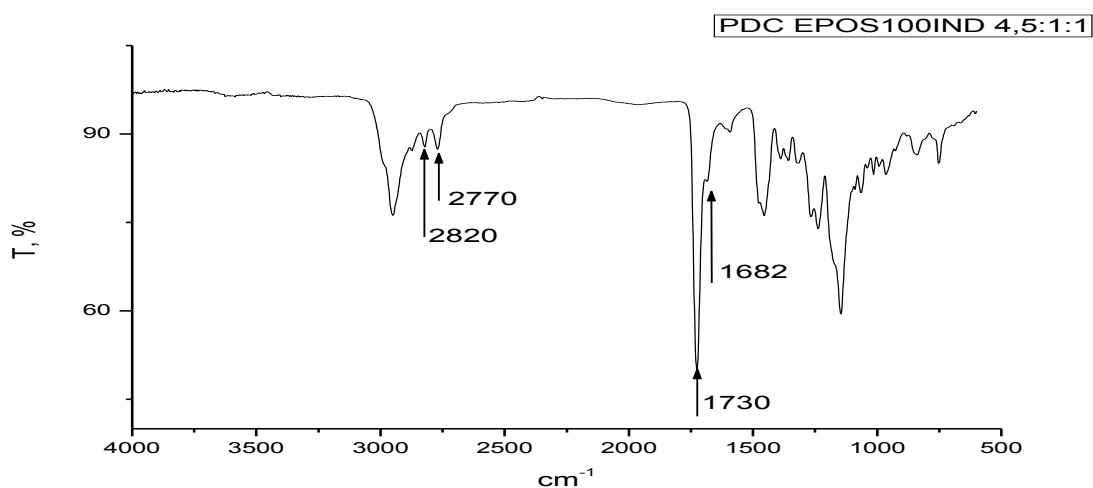


Рисунок 28 - ИК-спектр ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

В отличие от спектра физической смеси на ИК-спектрах ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 можно выделить полосу при 1682 см^{-1} , которая по данным литературы может соответствовать колебаниям «амид 1» амидной группы аморфной формы ИНД [137]. Так же на спектрах ИПЭЛК и ПЛК можно наблюдать снижение интенсивности полос при 2820 и 2770 см^{-1} , соответствующих диметиламиногруппам ЕРО, что можно объяснить их участием в ИПЭР и переходом в ионизированное состояние. Так же следует отметить, что в ИК-спектре ПЛК ЕРО/ИНД отчетливо выделяется характеристическая полоса на 1593 см^{-1} , обусловленная колебаниями

ионизированных карбоксильных групп ИНД, участвующих в образовании ионных связей с ионизированными диметиламиногруппами ЕРО.

Валентные колебания карбоксильных групп индометацина при 1714 см^{-1} перекрываются полосой с высокой интенсивностью на 1730 см^{-1} , соответствующей валентным колебаниям карбонильных групп ЕРО и S100. Для того чтобы исследовать данную область спектра и оценить возможный переход γ -формы индометацина в α -форму или аморфную форму нами был использован метод ближней ИК-спектроскопии.

4.8.5. Исследование структурных особенностей ПЛК ЕРО/ИНД и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД методом ближней ИК-спектроскопии

По данным литературы аморфная форма индометацина, как и в случае γ -формы, представляет из себя димер [186], отличие же состоит в большей подвижности связей между молекулами индометацина, входящими в состав аморфной формы, ввиду большего расстояния между молекулами (рисунок 29).

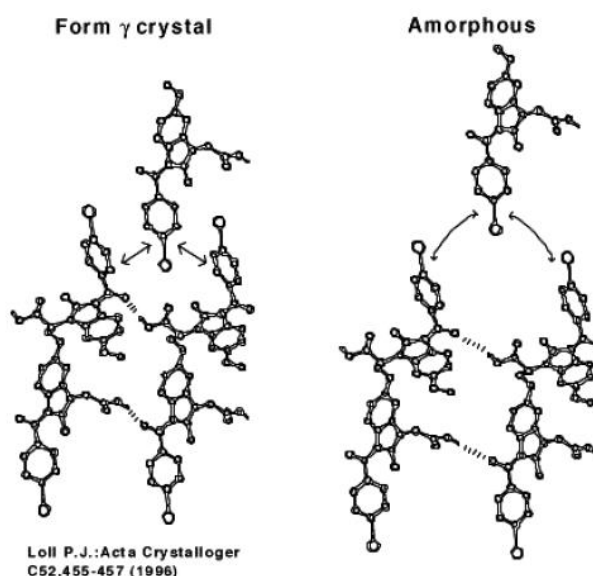


Рисунок 29 - Структура γ -формы и аморфной формы индометацина [163].

При этом меньшая плотность «укладки» молекул индометацина, в случае аморфной формы, будет влиять на интенсивность полос поглощения, связанных с ароматической структурой индометацина. Это будет выражаться либо в снижении их интенсивности, либо в отсутствии отдельных полос поглощения,

характерных для БИК-спектров кристаллической формы ИНД. Для того, чтобы идентифицировать полиморфную форму индометацина, включенного в структуру ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и в ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1, нами были сняты БИК-спектры субстанции индометацина, сополимеров ЕРО и S100, ПЛК и ИПЭЛК, а также физических смесей аналогичного состава. Анализ БИК спектров проводили в диапазоне длин волн 1600-1800 нм, в котором возможно присутствие полос поглощения характерных для всех трех полиморфных модификаций индометацина [121].

Полученные БИК-спектры ПЛК и ИПЭЛК сходны и имеют общие полосы поглощения при 1702 и 1729 нм, характерные для сополимеров ЕРО и S100. Кроме того на БИК-спектрах ПЛК и ИПЭЛК присутствует полоса поглощения при 1682 нм, соответствующая колебаниям связей С-Н бензольного кольца [163], что подтверждает присутствие индометацина в структуре ПЛК и ИПЭЛК (рисунок 30).

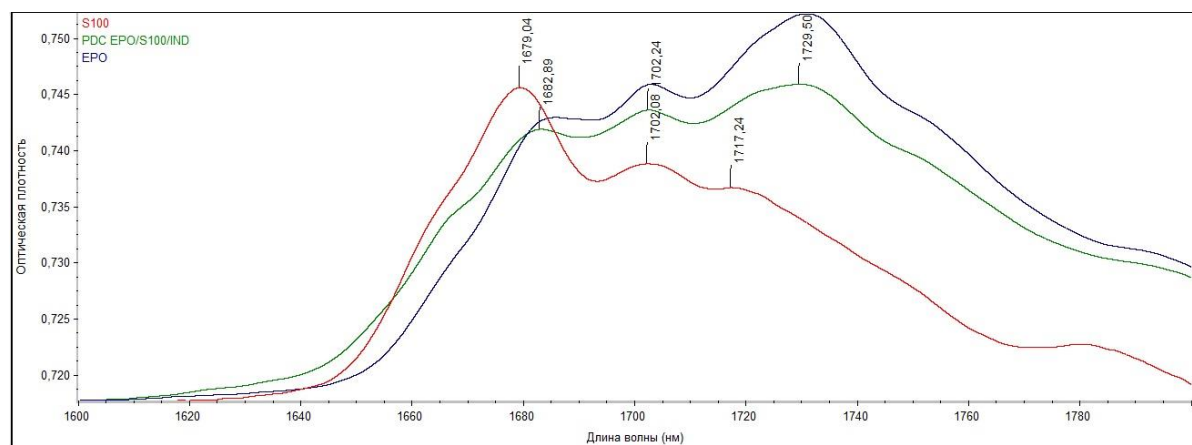


Рисунок 30 - БИК спектры S100, ЕРО и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1. По оси абсцисс – длина волны (нм), по оси ординат – оптическая плотность.

Так же следует обратить внимание на характеристическую полосу при 1696 нм, характерную для γ -формы индометацина. Данная полоса присутствует в БИК спектре субстанции индометацина и физических смесей соответствующих составу ИПЭЛК и ПЛК, но при этом отсутствует на БИК спектрах ПЛК и ИПЭЛК (рисунок 31). Отсутствие данной полосы в спектрах ПЛК и ИПЭЛК подтверждает включение аморфной формы индометацина в состав ПЛК и ИПЭЛК, что согласуется с данными литературы [114].

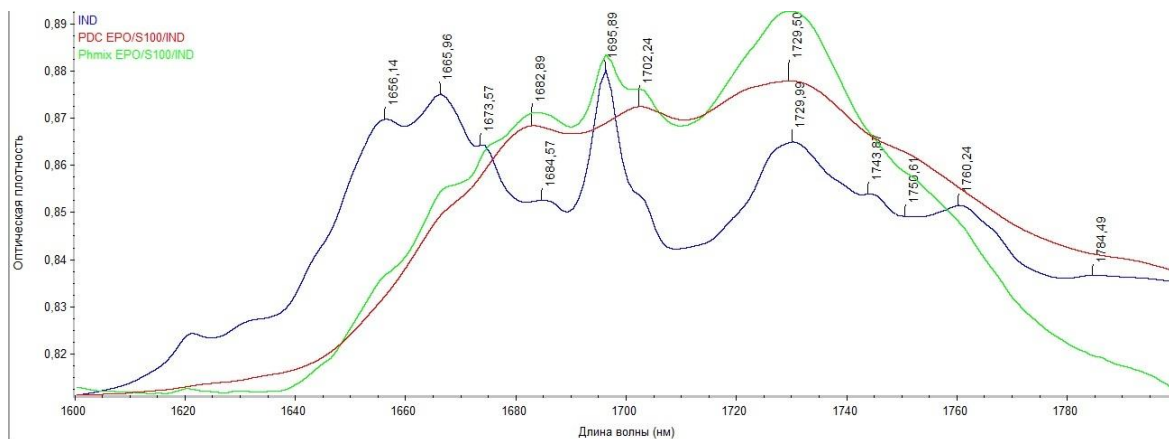


Рисунок 31 - БИК-спектр ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД в сравнении с БИК-спектрами физической смеси аналогичного состава и субстанции индометацина. По оси абсцисс – длина волны (нм), по оси ординат – оптическая плотность.

Для того чтобы подтвердить наше предположение о включении в состав ПЛК и ИПЭЛК аморфной формы индометацина, нами была применена спектроскопия комбинационного рассеяния.

4.8.6. Исследование структурных особенностей ПЛК ЕРО/ИНД и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД спектроскопией комбинационного рассеяния

Для дополнительной оценки полиморфного состояния индометацина включенного в ИПЭЛК, а также исследования взаимодействия между полимерными цепями противоположно заряженных сополимеров (ЕРО, S100) и индометацином нами была использована спектроскопия комбинационного рассеяния. Для определения полиморфной формы индометацина был выбран спектральный диапазон $1715-1100\text{ см}^{-1}$. После проведенного анализа на КР-спектрах субстанции индометацина и физической смеси ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 была найдена полоса на 1699 см^{-1} соответствующая γ -форме индометацина. При этом КР-спектр физической смеси является суперпозицией спектров индивидуальных сополимеров ЕРО, S100 и субстанции индометацина, что подтверждает включение всех компонентов ИПЭР в полученные комплексы (рисунок 32).

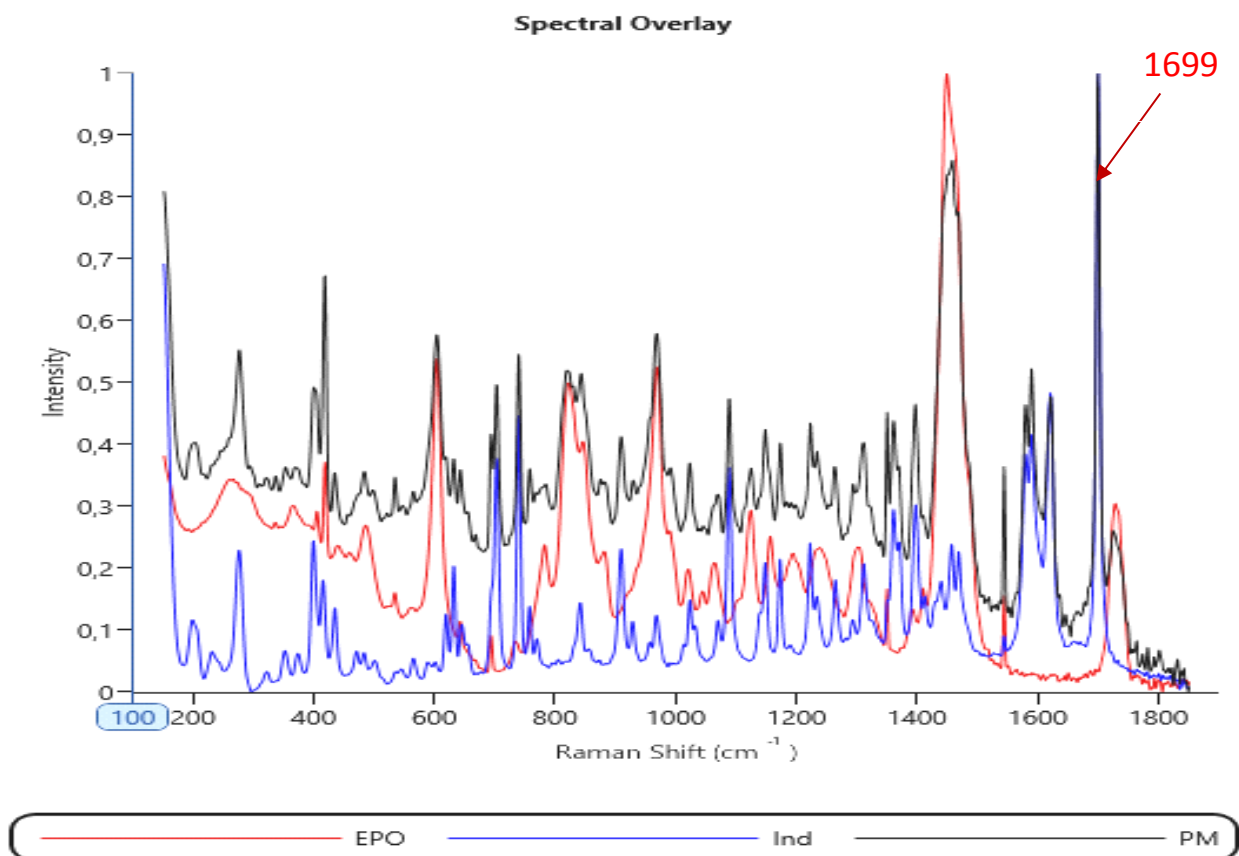


Рисунок 32 - КР-спектры ЕРО, индометацина и ФС ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – оптическая плотность.

При анализе КР-спектров частиц ИПЭЛК выявлена новая полоса на 1680 cm^{-1} , которая по данным литературы соответствует аморфной форме индометацина [114]. При этом оба пика (1680 и 1699 cm^{-1}) соответствуют ароматической карбонильной группе индометацина. Так же необходимо отметить, что присутствие на КР-спектрах ИПЭЛК низкочастотных колебаний при 200 cm^{-1} предполагает образование аморфной фазы (рисунок 33).

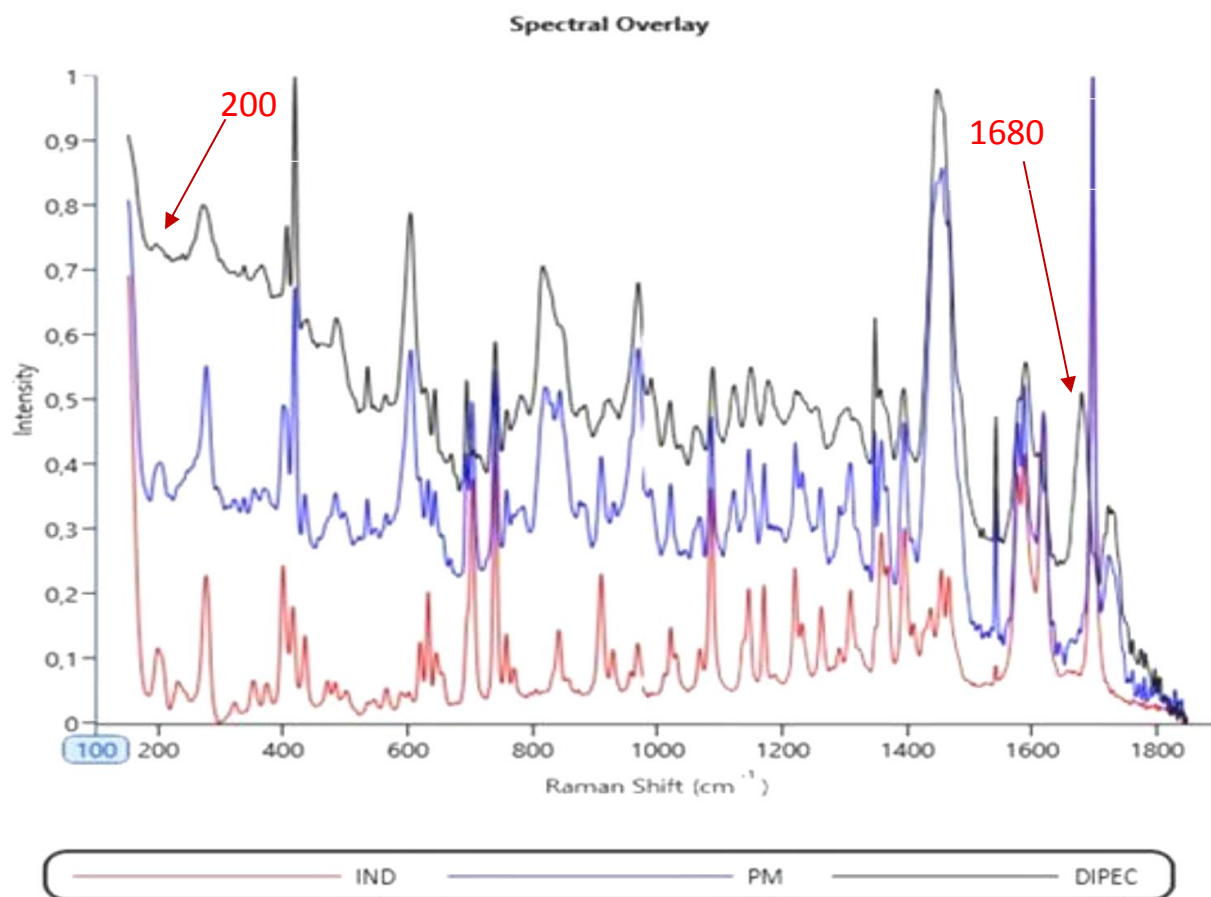


Рисунок 33 - КР-спектры ЕРО, ФС ЕРО/S100/ИНД и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД состава 4,5:1:1. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – оптическая плотность.

Таким образом методами спектроскопии в ближней ИК-области и спектроскопией комбинационного рассеяния подтвержден переход γ -формы индометацина в аморфную в процессе получения частиц ПЛК и ИПЭЛК.

4.8.7. Исследование структурных особенностей ПЛК ЕРО/ИНД и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД методами ДСК-МТ и порошковой рентгеновской дифракции

Для подтверждения перехода индометацина в аморфную форму, установленного методами ИК-, БИК-спектроскопии и спектроскопией комбинационного рассеяния, а так же для поиска дополнительных доказательств электростатического взаимодействия между сополимерами и лекарственным веществом, с образованием ИПЭЛК между ЕРО и индометацином в присутствии

S100, были использованы методы ДСК-МТ и порошковой рентгеновской дифракции.

Физическая смесь ЕРО/S100/ИНД состава 4,5:1:1 демонстрирует температуры стеклования на $50,8 \pm 1,1$ °С и на $152,5 \pm 1,3$ °С соответствующие температурам стеклования ЕРО и S100 (рисунок 16, Приложение 1).

Однако на ДСК-термограмме физической смеси отсутствует температура плавления индометацина, что свидетельствует о взаимодействии компонентов физической смеси при нагревании, с переходом γ -форма индометацина в аморфную форму. При оценке ПЛК и ИПЭЛК методом ДСК-МТ по наличию одной единственной температуры стеклования, доказано, что образованные комплексы являются однородными системами без присутствия микродоменов свободных сополимеров и субстанции индометацина (рисунок 17 и 18, Приложение 1). Температуры стеклования и плавления представлены в таблице 14.

Таблица 14 – температуры стеклования индивидуальных компонентов, ПЛК, ИПЭЛК и ФС аналогичного состава.

Исследуемый объект	T_с, °С
Eudragit® ЕРО	52,1±1,2
Eudragit® S100	173,35±1,5
Индометацин	160,2±1,1 (T _{пл})
ПЛК ЕРО/ИНД 3:1	52,8±1,1
ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	75,6±1,3
ФС ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	50,8±1,1; 152,5±1,3

Для дополнительного доказательства перехода индометацина из кристаллической формы в аморфную нами был использован метод порошковой рентгеновской дифракции. На рентгеновской дифрактограмме видны существенные отличия между ПЛК, ИПЭЛК и физическими смесями аналогичного состава (рисунок 34).

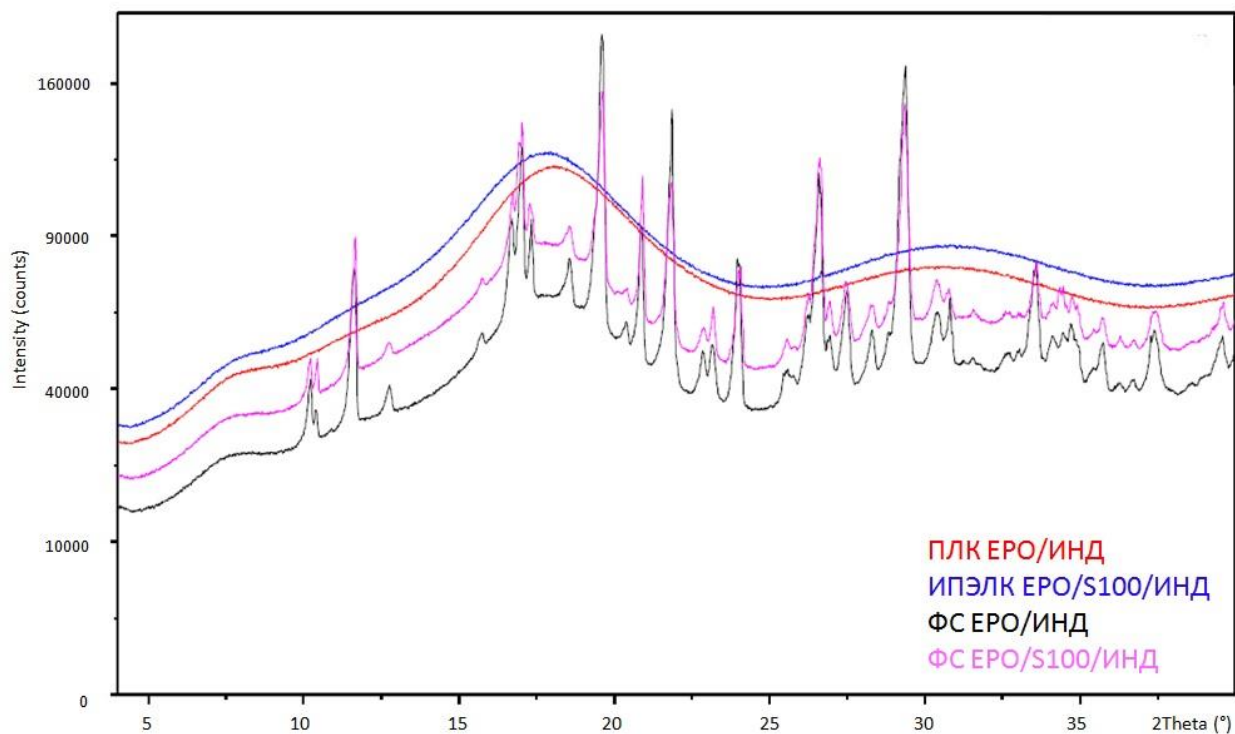


Рисунок 34 - Дифрактограмма ПЛК ЕРО/ИНД 3:1, ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 и физических смесей аналогичного состава. По оси абсцисс – интенсивность рассеянного излучения, по оси ординат - угол рассеяния.

Таким образом, исходя из результатов ДСК-МТ и порошковой рентгеновской дифракции, можно сделать следующие выводы:

1. синтезированные ПЛК и ИПЭЛК характеризуются наличием только одной температуры стеклования, следовательно, представляют собой индивидуальные соединения, однородные по структуре и не содержащие микродоменов макромолекулярных включений свободных сополимеров;
2. на ДСК-термограммах физических смесей отсутствует пик, характерный для точки плавления индометацина, что свидетельствует о переходе индометацина из γ -формы в аморфную форму, при этом методом рентгеноструктурного анализа доказано что в составе физических смесей индометацин находится в кристаллическом состоянии.
3. согласно данным порошковой рентгеновской дифракции индометацин входящий в состав ПЛК и ИПЭЛК находится в аморфном состоянии, что

согласуется с результатами полученными методами ИК, БИК и спектроскопии комбинационного рассеяния.

4.8.8. Оценка размера и поверхностного заряда частиц

ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1

Средний диаметр частиц ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1, полученных сразу после синтеза (до лиофильной сушки), лежит в пределах 505 ± 62 нм (рисунок 19, Приложение 1). Кроме того 86,6 % площади поверхности частиц имеют положительный заряд $17,4 \pm 4,41$ мВ (рисунок 20, Приложение 1), что указывает на преимущественное расположение положительно заряженного ЕРО на поверхности частиц, при этом можно предположить что молекулы индометацина, включенные в дефектные области ИПЭЛК, обращены во внутренние слои частиц.

При этом размер частиц ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 больше и составляет 720 ± 198 нм, поверхностный заряд частиц ПЛК равен $19,9 \pm 2,35$ мВ. Несколько больший размер и поверхностный заряд частиц ПЛК по сравнению с частицами ИПЭЛК можно объяснить наличием в составе частиц ИПЭЛК сополимера S100, который в силу своей анионной природы понижает поверхностный заряд частиц. При этом взаимодействие ЕРО с S100, придает частицам ИПЭЛК более жесткую структуру и меньший размер по сравнению с частицами ПЛК.

Кроме того следует отметить, что при оценке размера частиц ПЛК и ИПЭЛК установлено, что частицы ПЛК более вариабельны в размерах. Так, размер частиц ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 колеблется от 433,4 до 1287,0 нм, что неприемлемо для наноразмерной системы доставки лекарств. В тоже время, размер частиц ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 находится в диапазоне от 448,1 до 571,5 нм. Таким образом, можно сделать вывод о том, что в процессе синтеза ИПЭЛК образуются частицы с более однородным распределением по размерам, что более предпочтительно для дальнейшего терапевтического применения.

Далее мы определили размер и форму лиофилизированных частиц ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1. Для этой цели нами был использован анализатор

размера и формы частиц «Morphologi G3SE-ID» (Malvern, Великобритания), оснащенный оптико-волоконным Раман-спектрометром (Kaiser Optical Systems, INC., Германия). После проведенного анализа было установлено, что среди полученных частиц можно выделить три фракции:

- 1) 98,06 % со средним диаметром ≤ 300 нм;
- 2) 1,90 % со средним диаметром от 300 нм до 10 мкм;
- 3) 0,04 % со средним диаметром более 10 мкм.

Все оцениваемые частицы имеют округлую форму (рисунок 35) и по данным Раман-спектрометра не содержат свободного индометацина.

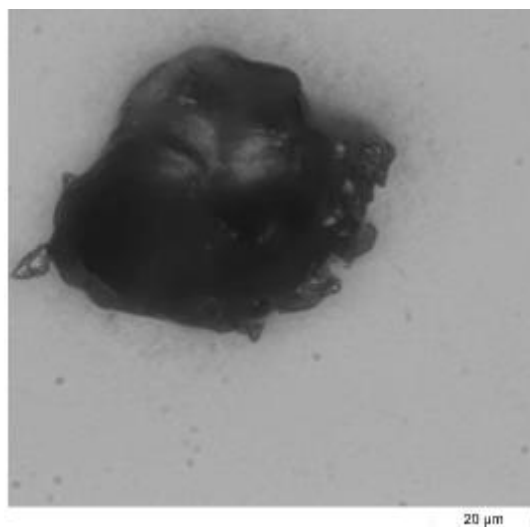


Рисунок 35 - Форма частиц ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1.

На основе полученных результатов можно сделать вывод о том, что полученный ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД является однородной наноразмерной системой.

ГЛАВА 5. Фармацевтическое исследование полимер-лекарственных и интерполиэлектролит-лекарственных комплексов с индометацином на основе Eudragit® RL, Eudragit® EPO и Eudragit® S100

5.1. Изучение кинетики высвобождения ИНД из порошков ПЛК RL/ИНД 15:1, ПЛК EPO/ИНД 3:1 и ИПЭЛК EPO/S100/ИНД 4,5:1:1 in vitro.

В последующих экспериментах мы тестировали полученные лекарственные комплексы на возможность их использования в качестве системы с контролируемой доставкой индометацина. Оценка диффузионно-транспортных свойств порошков ПЛК RL/ИНД 15:1, ПЛК EPO/ИНД 3:1 и ИПЭЛК EPO/S100/ИНД 4,5:1:1 была проведена в условиях, имитирующих pH отделов ЖКТ в течении 7 часов (1 час в среде 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты, по 2 часа в фосфатных буферных растворах с pH = 5,8; 6,8; 7,4). Количество высвободившегося ИНД определяли УФ-спектрофотометрически. В качестве препаратов сравнения были выбраны таблетки покрытые кишечнорастворимой оболочкой – «Индометацин» (таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой 25 мг, производитель - ООО «Озон», Россия) и таблетки пролонгированного действия – «Метиндол® ретард» (таблетки пролонгированного действия 75 мг, производитель: «MEDA PHARMA», Германия). Профили высвобождения ИНД из препаратов сравнения представлены на рисунке 36.

Порошок ПЛК RL/ИНД 15:1 демонстрирует высвобождение 10% ИНД в кислой среде (pH = 1,2). В среде с pH = 5,8 происходит линейное высвобождение ИНД, которое достигает 75 % в течение 3 часов. К концу эксперимента (7 часов) ИНД высвобождается полностью (рисунок 37). Однако, ПЛК RL/ИНД 15:1 уступает препаратам сравнения, так как не обеспечивает пролонгированного высвобождения ИНД. Поэтому дальнейшее его исследование не проводилось.

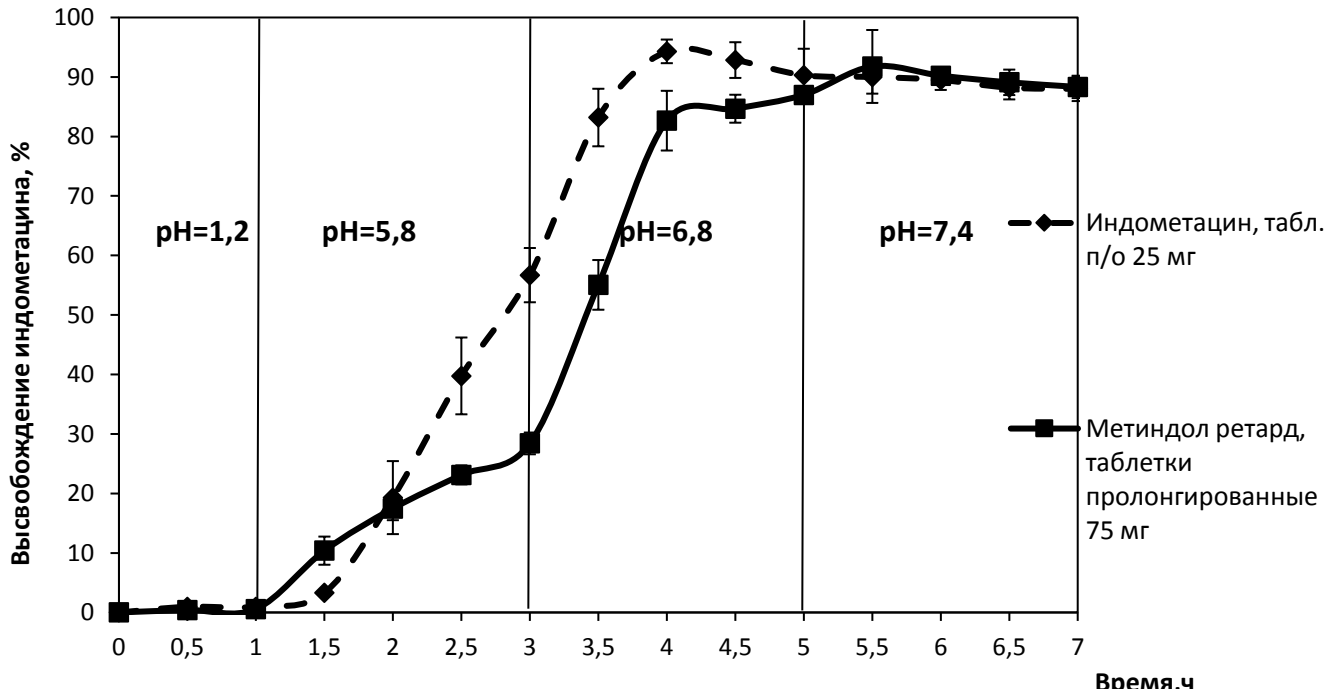


Рисунок 36 – Профили высвобождения ИНД из таблеток препаратов сравнения.

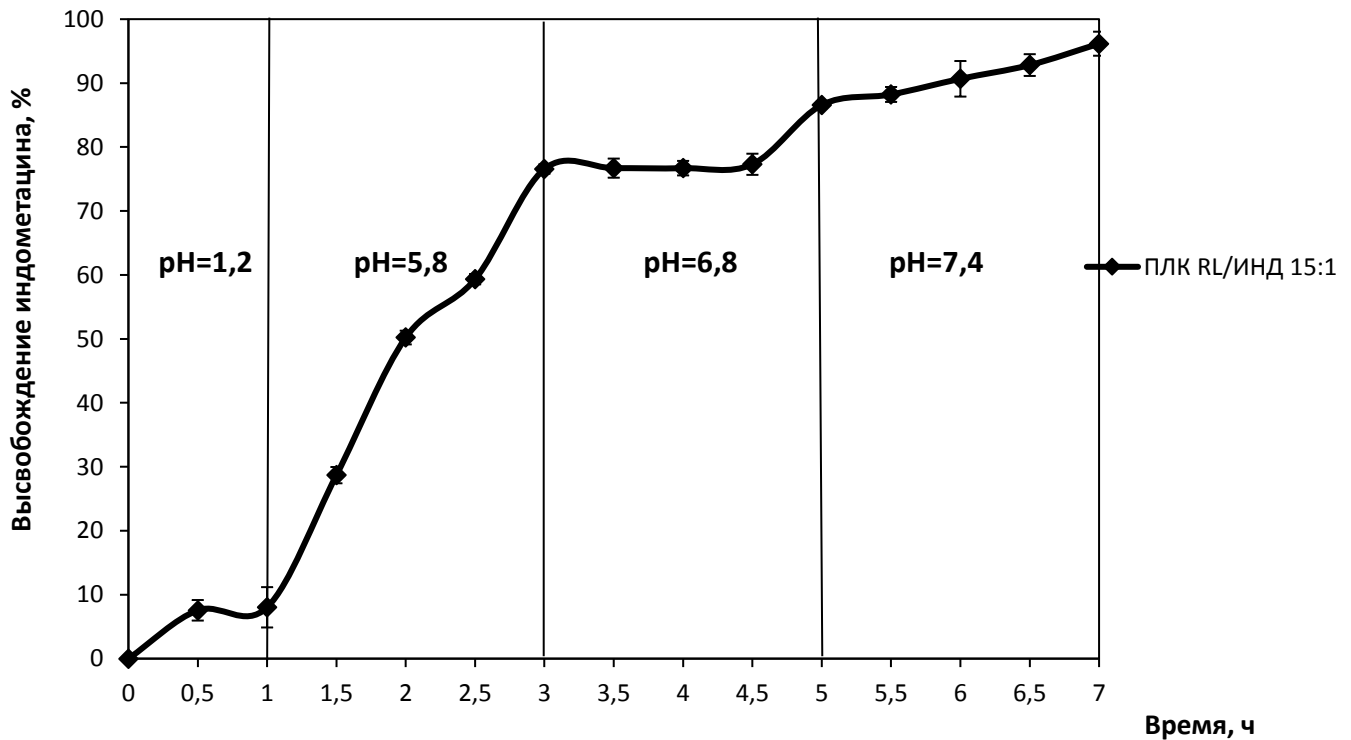


Рисунок 37 – Профили высвобождения ИНД из порошка ПЛК RL/ИНД 15:1.

Далее было проведено сравнительное исследование по высвобождению индометацина из порошка ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и порошка ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 в течении 7 часов в средах, имитирующих продвижение

по ЖКТ. На рисунке 38 представлены профили высвобождения индометацина из порошков ПЛК и ИПЭЛК.

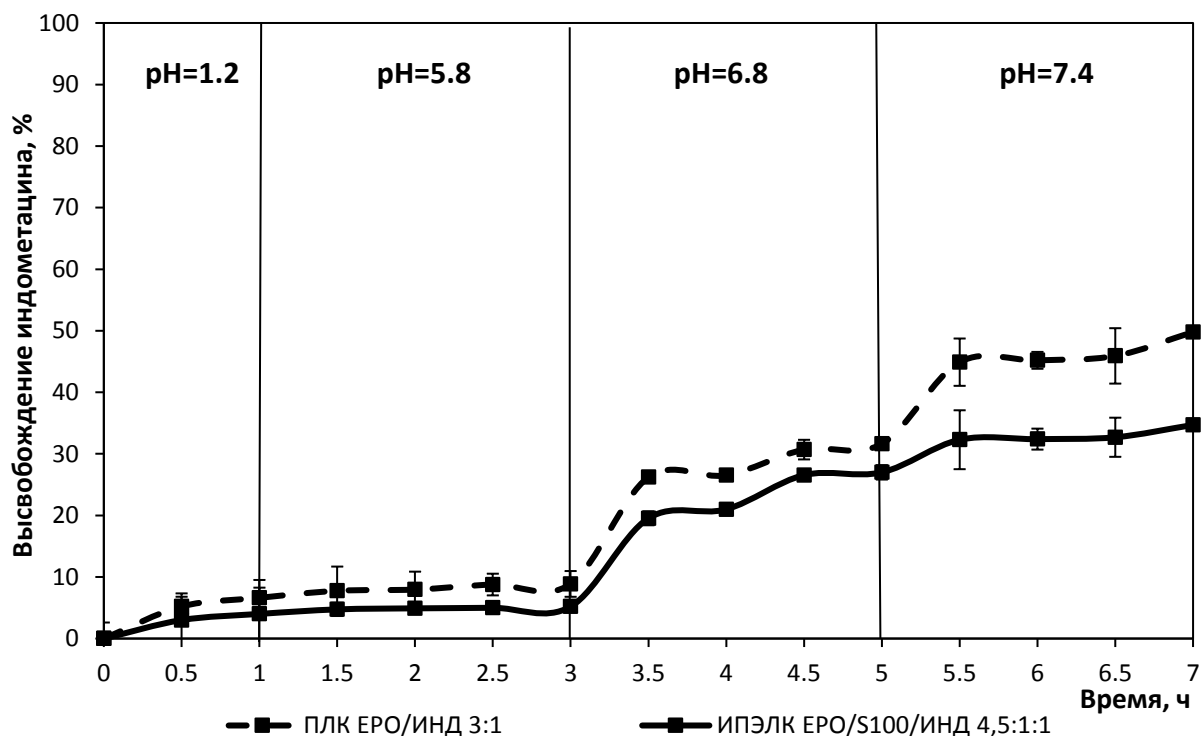


Рисунок 38 - Профиль высвобождения индометацина из субстанции индометацина, частиц ПЛК и ИПЭЛК.

Высвобождение ИНД из порошков ПЛК и ИПЭЛК достигает 50 % и 35 % соответственно. При этом высвобождение ИНД из ПЛК и ИПЭЛК после 3 часов эксперимента достигает максимум 10 %, что говорит о том, что частицы ПЛК и ИПЭЛК устойчивы в среде с pH = 1,2 и начинают высвобождать ИНД только в средах имитирующих pH кишечника.

Исходя из структуры ПЛК и ИПЭЛК, можно предположить следующий механизм высвобождения лекарственного вещества из этих систем. В кислой среде (pH 1,2 и 5,8), макромолекулы ЕРО начинают «распрямлять» свои полимерные цепи и гидратируются, что приводит к частичному растворению сополимера. При этом начинают растворяться и цепи ЕРО, связанные с ИНД. Однако высокий положительный заряд на диметиламиногруппах все еще препятствует высвобождению индометацина. Оставшееся количество ионизированного ЕРО и ЕРО связанного с ИНД, после переноса в среду с более высоким значением pH, теряет заряд на диметиламиногруппах, что приводит к

образованию нерастворимых волокон в структуре частиц. При рН 6,8 диметиламиногруппы ЕРО практически полностью теряют заряд, в то время как субстанция ИНД начинает ионизироваться. Это приводит к разрыву связей между ЕРО и ИНД, и высвобождению ИНД в среду растворения. Скорость высвобождения ИНД увеличивается, когда ПЛК и ИПЭЛК помещают в последнюю среду растворения. При этом высвобождение ИНД из ИПЭЛК на 15 % меньше чем из ПЛК, что можно объяснить образованием на поверхности частиц оболочки ИПЭК между ЕРО и S100, замедляющей высвобождение ИНД.

5.2. Определение степени сыпучести порошка

ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1

Для определения возможной перспективности использования порошка ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 в фармацевтической технологии на стадии дозирования в первичную упаковку, а также при получении таблеток методом прямого прессования исследована сыпучесть данного порошка. Сыпучесть зависит от множества факторов и характеристик порошка: гранулометрического состава и насыпной плотности, трения между частицами и стенками оборудования, формы, характера поверхности, их плотности и влажности. Таким образом, сыпучесть - комплексная характеристика, имеющая крайне важное технологическое значение [61]. Степень сыпучести порошков характеризуют следующими критериями: сыпучесть (скорость протекания порошка через отверстие); угол естественного откоса и насыпной объем. В данной работе степень сыпучести ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1, в сравнении с индивидуальными сополимерами определяли по всем трем критериям, рекомендованным ГФ XIV издания (ОФС 1.4.2.0016.15).

5.2.1. Определение сыпучести

В таблице 15 приведены значения сыпучести для ИПЭЛК и индивидуальных сополимеров, полученные с использованием воронок без выходного "ствола" с диаметрами выходных отверстий 10, 15 и 25 мм.

Таблица 15 - Значения сыпучести ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 и индивидуальных сополимеров.

Образец	Сыпучесть, с/100г (D=10 мм)	Сыпучесть, с/100г (D=15 мм)	Сыпучесть, с/100г (D=25 мм)
ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД	301,2±7,6	62,3±3,4	21,0±2,1
Eudragit®ЕРО	156,9±11,1	132,0±5,0	-
Eudragit®S100	167,6±18,3	2,3±0,5	-

5.2.2. Определение угла естественного откоса

В таблице 16 приведены значения угла естественного откоса для ИПЭЛК и индивидуальных сополимеров.

Таблица 16 - Значения угла естественного откоса ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 и индивидуальных сополимеров.

Образец	Угол естественного откоса, град.
ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД	44,9±1,7
Eudragit®ЕРО	37,9±1,8
Eudragit®S100	35,2±1,3

Согласно классификации, приведенной в ГФ XIV, в зависимости от значения угла естественного откоса, степень сыпучести порошка ИПЭЛК, также как и порошков индивидуальных сополимеров, можно охарактеризовать как "удовлетворительная".

Как известно, для производственных целей чаще подходят углы естественного откоса в диапазоне 40 – 50 градусов [12].

5.2.3. Определение насыпной плотности

Результаты определения насыпного объема, насыпной плотности и коэффициента прессуемости для ИПЭЛК в сравнении с индивидуальными сополимерами приведены в таблице 17.

Таблица 17 - Основные параметры насыпного объема и насыпной плотности для ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 и индивидуальных сополимеров.

Образец	Насыпной объем, мл		Насыпная плотность, г/мл		Способность к уплотнению, мл	Коэффициент прессуемости
	До уплотнения	После уплотнения	До уплотнения	После уплотнения		
ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД	118	100	0,23	0,27	4	15,25
Eudragit®ЕРО	92	60	0,33	0,50	20	34,78
Eudragit®S100	67	56	0,48	0,58	5	16,42

Как видно из приведенных результатов, порошок ИПЭЛК характеризуется наименьшей насыпной плотностью и способностью к уплотнению по сравнению с индивидуальными сополимерами.

Значения насыпной плотности также заложены в основу расчета индекса Хауснера и индекса Карра, по величинам, которых можно оценить сыпучесть и сжимаемость [61]. Значения индексов Карра и Хауснера для ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 и индивидуальных сополимеров с их оценкой в соответствии с USP приведены в таблице 18.

Таблица 18 – Значения Карра и Хауснера для ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 и индивидуальных сополимеров.

Образец	Индекс Хауснера	Индекс Карра	Оценка сжимаемости
ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД	1,17	14,81	Хорошая
Eudragit®ЕРО	1,52	34,00	Очень плохая
Eudragit®S100	1,21	17,24	Средняя

Таким образом, порошок ИПЭЛК можно охарактеризовать как обладающий «удовлетворительной» сыпучестью и «хорошей» сжимаемостью,

что является перспективным для технологии таблетированных ЛФ и превосходит данные характеристики индивидуальных сополимеров.

5.3. Изучение кинетики высвобождения ИНД из таблеток на основе ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1

Далее исследовали высвобождение ИНД из таблеток на основе ПЛК и ИПЭЛК в соответствии с методикой описанной выше. Методом прямого прессования получили таблетки на основе порошков ПЛК и ИПЭЛК без использования вспомогательных веществ, а также таблетки на основе физических смесей аналогичного состава с добавлением 1 % кальция стеарата, предотвращающего налипание порошков физических смесей на пуансоны. Диаметр таблеток составил 9 мм, давление прессования 2,45 МПа, форма таблеток двояковыпуклая, радиус кривизны 1,1D. Таблетки на основе физических смесей быстро дезинтегрировались через 15 мин в среде, имитирующей рН желудка. Это можно объяснить тем, что сополимеры ЕРО и S100 действуют индивидуально, при этом отсутствует взаимодействие между полимерами и лекарственным веществом. Данные результаты согласуются с исследованиями проведенными ранее нашей группой [152, 154]. На рисунке 39 показан профиль высвобождения ИНД, из таблеток на основе ПЛК и ИПЭЛК.

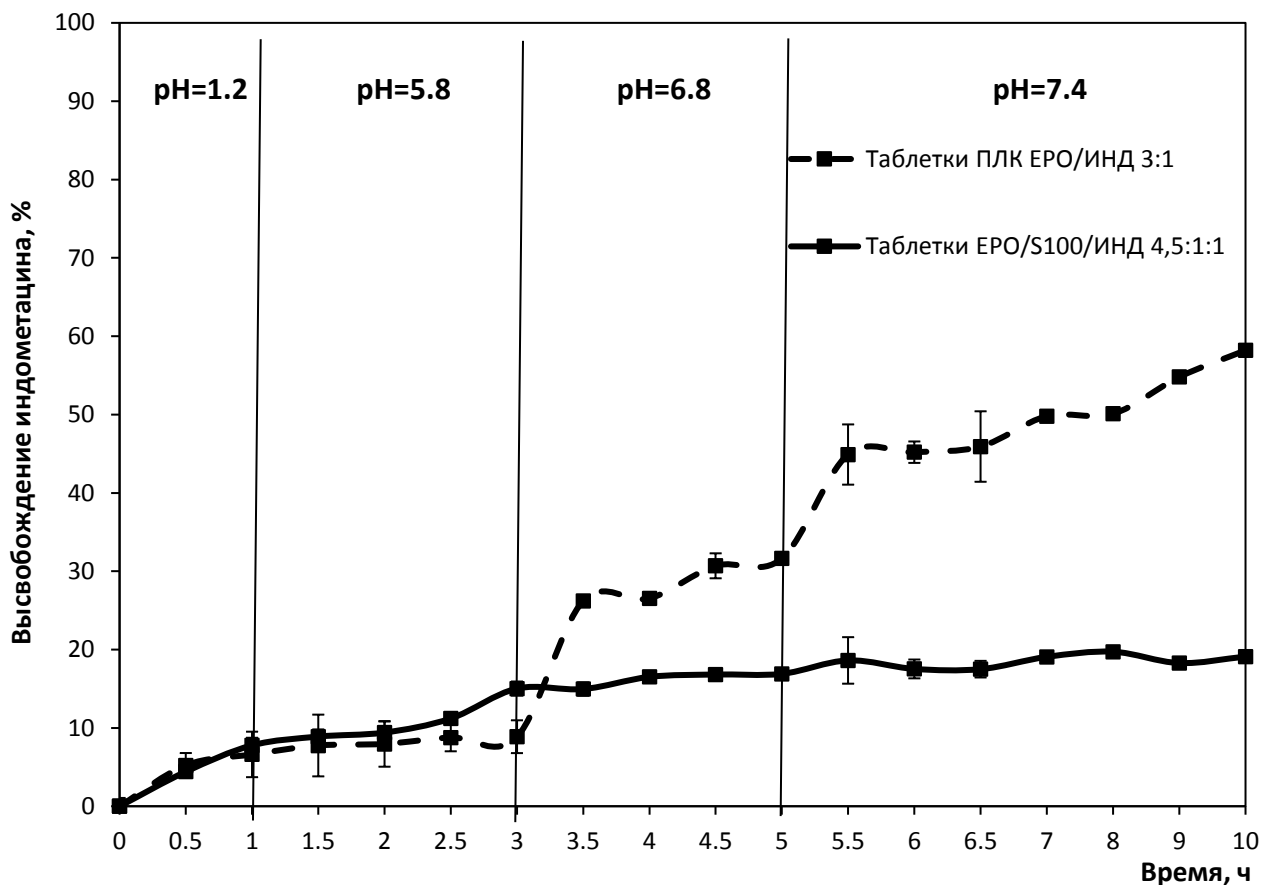


Рисунок 39 - Профили высвобождения ИНД из таблеток ПЛК и ИПЭЛК.

В среде, имитирующей желудок, высвобождение ИНД достигает 5 %. Следует отметить, что профиль высвобождения ИНД из таблетированной матрицы на основе ИПЭЛК значительно отличается от профиля высвобождения ИНД из порошка ИПЭЛК и достигает 19 % после 10 часов эксперимента. В тоже время профиль высвобождения ИНД из таблеток ПЛК ЕРО/ИНД сходен с профилем высвобождения ИНД из порошка и достигает 58 % после 10 часов эксперимента. При этом таблетки ПЛК полностью распались после 3 часов эксперимента и дальнейшее высвобождение ИНД обусловлено его высвобождением из частиц ПЛК. Полученные результаты можно объяснить образованием гидрогелевого слоя на поверхности таблеток ИПЭЛК, который препятствует проникновению среды растворения внутрь матрицы (рисунок 40).

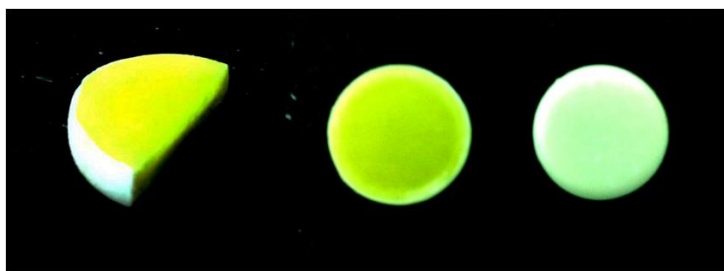


Рисунок 40 - Фотография таблетки ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД в разрезе после 10 часового эксперимента (поверхность таблетки покрыта гидрогелевым слоем ИПЭК белого цвета, внутри ИПЭЛК желтого цвета).

Причиной этого является вклад кишечнорастворимого сополимера S100, который играет важную роль как дополнительный компонент, образующий гидрофобный слой. Это делает матрицу менее проницаемой для лекарственного вещества и более стабильной до конца эксперимента. На основе полученных результатов можно сделать вывод о том, что уникальные свойства интерполиэлектролитных комплексов ЕРО-S100, можно легко регулировать, изменяя их состав и плотность заряда, что делает их применимыми для проектирования систем с контролируемым высвобождением для доставки лекарственных веществ в дальние отделы кишечника.

5.4. Оценка фармакокинетических параметров ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 in vivo

Фармакокинетические исследования проводили в сравнении с субстанцией индометацина. В качестве модели для оценки фармакокинетических параметров были выбраны кролики. В ходе эксперимента кроликам однократно перорально вводили ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 в виде суспензированных в воде порошков и в виде таблеток. Средняя масса порошка и таблеток ПЛК составила 110 мг, средняя масса порошка и таблеток ИПЭЛК составила 170 мг. Доза индометацина во всех случаях составила 25 мг. Таблетки для фармакокинетической оценки получали методом прямого прессования, без использования вспомогательных веществ, диаметр таблеток составил 6 мм, форма таблеток двояковыпуклая, радиус кривизны 1,1D. В качестве модели для

оценки фармакокинетических параметров были выбраны кролики. Биодоступность рассчитывали относительно субстанции индометацина. Кривые зависимости ИНД в плазме крови кроликов после перорального введения систем на основе полимер-лекарственных комплексов представлены на рисунке 41 и 42.

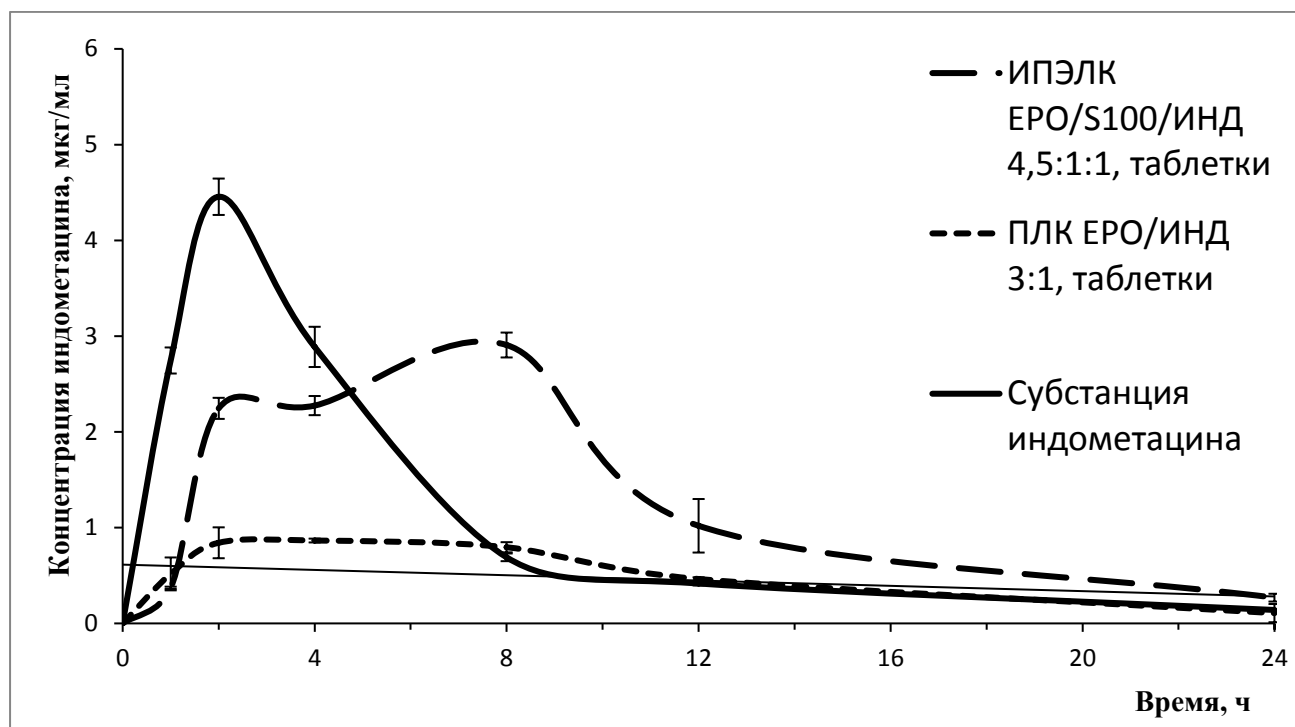


Рисунок 41 - Фармакокинетические кривые таблеток ПЛК ЕРО/ИНД, ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД и субстанции индометацина.

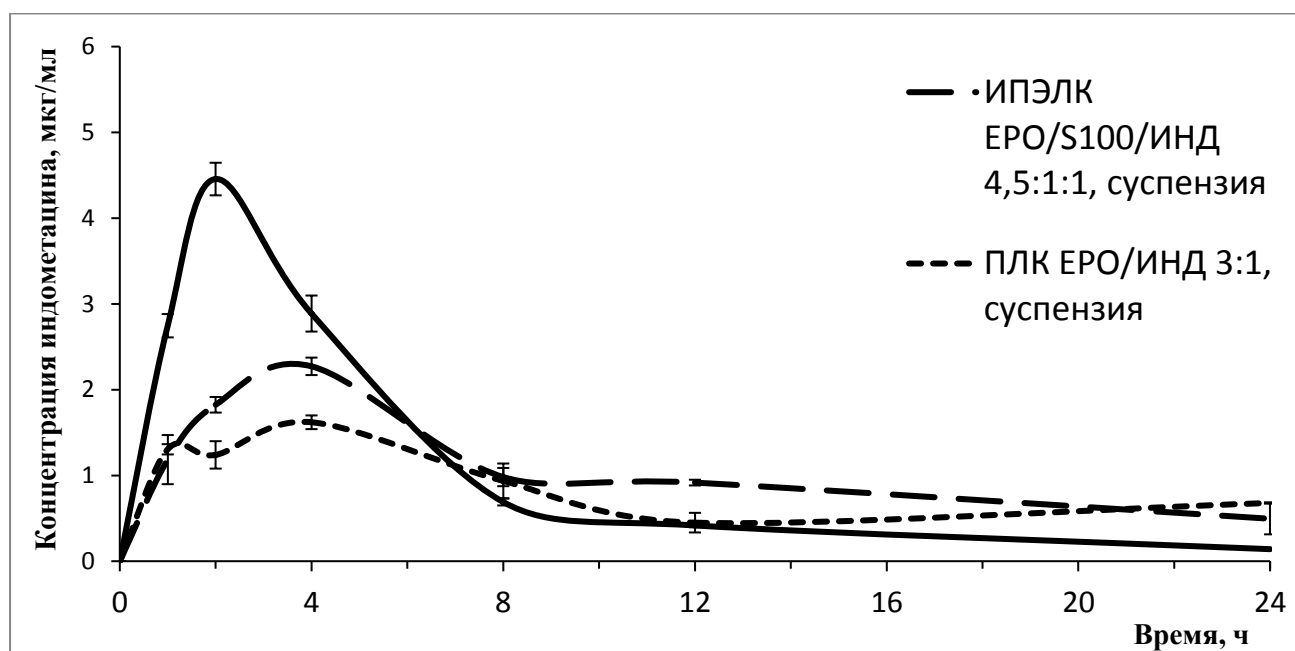


Рисунок 42 - Фармакокинетические кривые суспензии на основе ПЛК ЕРО/ИНД, ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД и субстанции индометацина.

Для более полной оценки полученной картины был проведен обсчет основных фармакокинетических параметров модельно-независимым методом с помощью программы Kinetica™ 5, результаты которых представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Основные фармакокинетические параметры ПЛК и ИПЭЛК в форме таблеток и порошков в сравнении с препаратами субстанцией индометацина.

№ п/п	Образец	C_{\max} , мкг/мл	T_{\max} , ч	$AUC_{0-24ч}$, мкг×ч/мл	MRT, ч	$F_{отн}$, %
1	ИПЭЛК (таблетки, 25 мг)	2,91 ± 0,13	8	33,46 ± 1,34	9,15 ± 0,39	142,50
2	ПЛК (таблетки, 25 мг)	0,87 ± 0,02	4	11,90 ± 0,46	9,89 ± 0,42	50,68
3	ИПЭЛК (порошок, 25 мг)	2,27 ± 0,10	4	24,96 ± 1,08	20,58 ± 0,93	106,30
4	ПЛК (порошок, 25 мг)	1,62 ± 0,08	4	19,44 ± 0,76	27,57 ± 1,14	82,79
5	Индометацин (порошок, 25 мг)	4,45 ± 0,19	2	23,48 ± 0,84	7,34 ± 0,32	-

Как видно ПЛК и ИПЭЛК в виде порошков обладают большим средним временем удерживания (MRT) по сравнению с таблетками ПЛК и ИПЭЛК, что доказывает их пролонгированное действие. При этом MRT ИПЭЛК и ПЛК в виде порошка превышает MRT субстанции ИНД в три и четыре раза соответственно. Так же необходимо отметить, что максимальная концентрация индометацина в плазме крови кроликов при пероральном введении таблеток ИПЭЛК наблюдается через 8 часов эксперимента. При этом относительная биодоступность индометацина из таблеток ИПЭЛК почти в полтора раза выше, чем из субстанции индометацина.

Таким образом, исходя из полученных результатов, можно сделать следующие выводы:

1) суспензия и таблетки на основе ПЛК, ввиду замедленного высвобождения и низкой биодоступностью могут быть использованы в качестве системы

местного действия - для лечения воспалительных заболеваний толстого отдела кишечника (колоректальный рак, болезнь Крона);

2) суспензия и таблетки на основе ИПЭЛК - ввиду высокой биодоступности и значительно более высокими значениями C_{\max} и T_{\max} , лучше подходят в качестве системы доставки с локализованным (в оптимальную зону всасывания) и резорбтивным действием для лечения системных заболеваний (ревматоидный артрит и т.д).

5.5. Исследование острой токсичности и влияния на поведенческие реакции мышей образца ИПЭК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1

Введение образца ИПЭК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 в дозе 3000 мг/кг (максимальная доза, которую возможно было ввести), не приводило к гибели мышей, поэтому ЛД₅₀ образцов определить не удалось.

Образец ИПЭЛК при ежедневном введении не оказывал влияния на поведенческие характеристики мышей в «открытом поле», не изменяя показателей двигательной и исследовательской активности по сравнению с контрольной группой животных [53].

Результаты исследований представлены в таблицах 5, 6 и 7, Приложения 2.

5.6. Технологическая схема получения и показатели контроля качества порошка ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1

На основе проведенных физико-химических и фармацевтических исследований ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 предложена технологическая схема получения «Порошка с индометацином для приготовления суспензии пролонгированного действия для приема внутрь» (рисунок 43) и показатели контроля качества (таблица 20).

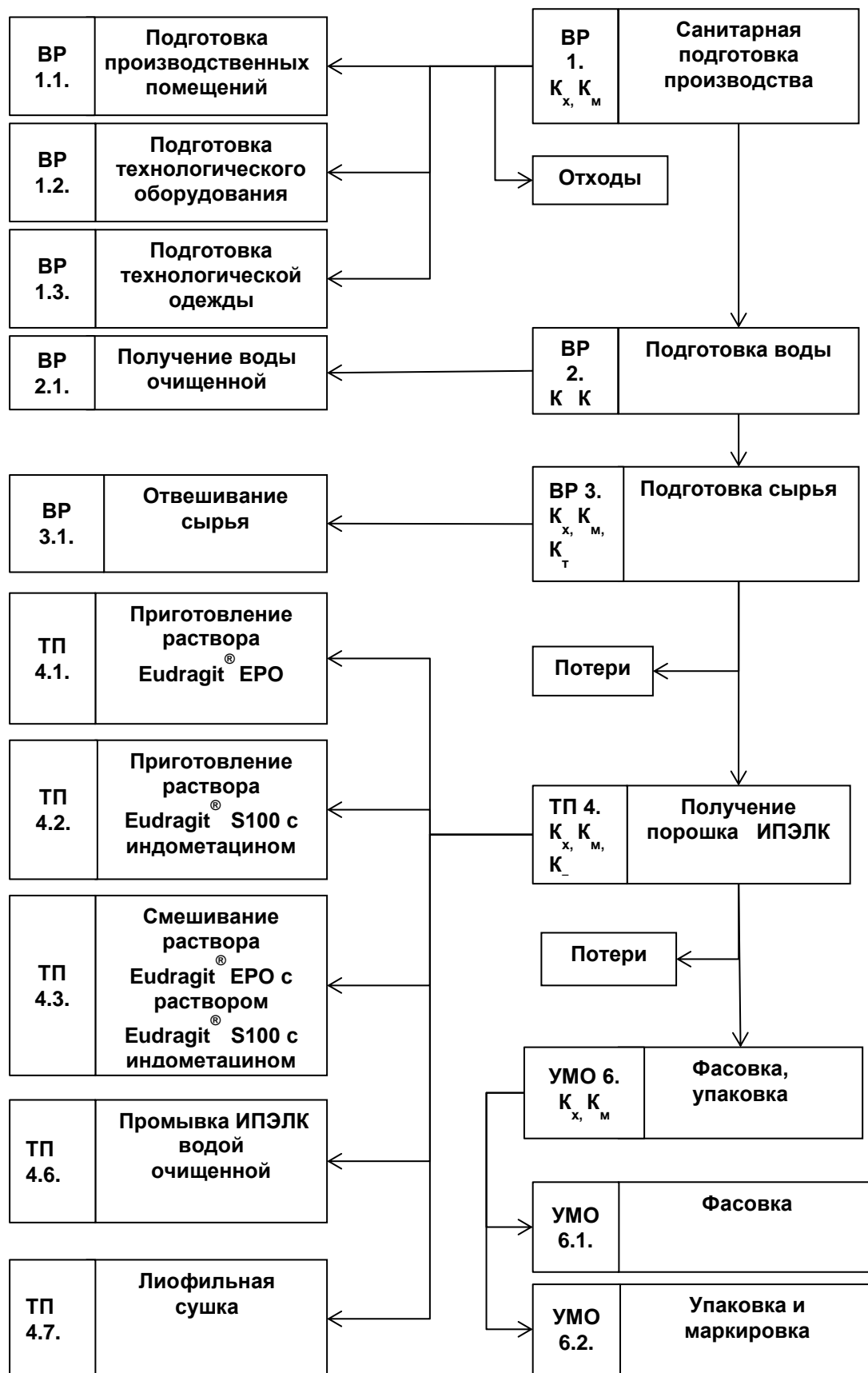


Рисунок 43 – Технологическая схема получения порошка ИПЭЛК EPO/S100/ИНД 4,5:1:1.

Таблица 20 - Показатели контроля качества на «Порошок с индометацином для приготовления суспензии пролонгированного действия для приема внутрь»

Показатель	Метод	Норма
Описание	Визуальный Органолептический ГФ РФ ОФС.1.1.0001.18	Желтый аморфный порошок без запаха
Растворимость	ГФ РФ ОФС.1.2.1.0005.15	Практически не растворим в воде и спирте, умеренно растворим в диметилсульфоксиде.
Подлинность	ИК-спектроскопия ГФ РФ ОФС.1.2.11.0002.15	ИК-спектр, полученный в таблетках с калия бромидом, должен иметь полосы поглощения при волновых числах 2770, 2820, 1682 и 1730 см ⁻¹
Примеси свободных полимеров	Определение проводится методом ДСК-МТ	Отсутствие примесей исходных полимеров определяется методом ДСК-МТ по наличию единственной температуры стеклования, находящейся в диапазоне от 50 до 100 °С
Однородность массы	ГФ РФ ОФС.1.4.2.0009.15	500 мг ± 7,5 %
pH суспензии	ГФ РФ ОФС.1.2.1.0004.15 Потенциометрический	5,0-7,0 (1 % водный раствор)
Седиментационная устойчивость	ГФ РФ ОФС.1.4.1.0014.15	Не менее 2 минут после приготовления суспензии
Размер частиц	Метод динамического рассеяния света	При анализе 0,01 % суспензии методом динамического рассеяния света средний размер частиц не должен превышать 600 нм
Потеря в массе при высушивании	ГФ РФ ОФС.1.2.1.0010.15	Около 1 г (т.н.) сушат при 100 – 105 °С до постоянной массы, потеря в массе при высушивании не должна превышать 1 %
Количественное определение	УФ-спектрофотометрия	Содержание индометацина (при 270 нм в 0,1 М растворе гидроксида натрия) не менее 71,25 мг и не более 78,75 мг
Микробиологическая чистота	ГФ РФ ОФС.1.2.4.0002.18	Должен выдерживать испытания на микробиологическую чистоту в соответствии с требованиями ГФ XIV изд.
Форма выпуска	Порошок: по 500 мг препарата во флаконах темного стекла с навинчивающейся крышкой, с контролем вскрытия. По 10 флаконов с порошком внутрь по 5 мл, уложенных в один пластиковый поддон, вместе с инструкцией по применению в картонной пачке.	
Хранение	В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С	
Срок годности	2 года.	

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Экспериментально подобраны оптимальные условия получения микрокапсул с индометацином на основе ИПЭК, образованного Eudragit® E100, Eudragit® L30D-55 и альгинатом натрия, методом ультразвукового распыления: частота ультразвуковых колебаний 20 кГц, концентрация раствора E100 – 0,5 %, концентрация раствора L30D-55 – 0,1 %, лиофильная сушка при температуре - 52 °С и давлении 5 Па.

2. Методом оптической микроскопии установлено, что полученные микрокапсулы представляют собой сферические частицы размером 140 ± 19 мкм, методами ИК-спектроскопии и дифференциальной сканирующей калориметрии с моделируемой температурой установлено, что в состав полученных микрокапсул входят АЛГ-Na, E100, L30D-55 и индометацин в виде кристаллической γ -формы. Методом УФ-спектрофотометрии определены количественное содержание и эффективность инкапсуляции индометацина: $2,75 \pm 0,11$ % и 74 ± 1 %, соответственно.

3. Исследован профиль высвобождения индометацина из микрокапсул *in vitro* в средах с $\text{pH} = 1,2$ и $\text{pH} = 6,8$. Высвобождение индометацина в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты в течение 2 ч составило 10 %, с последующим полным высвобождением в фосфатном буферном растворе с $\text{pH} = 6,8$ через 30 минут эксперимента.

4. Методами гравиметрии, УФ-спектрофотометрии, вискозиметрии исследованы условия получения полимер-лекарственных комплексов и интерполиэлектродит-лекарственных комплексов. При оптимальных условиях синтезированы: ПЛК RL/ИНД – состав реакционной среды 15:1; ПЛК ЕРО/ИНД – состав реакционной среды 3:1; ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД – состав реакционной среды 4,5:1:1. Методами динамического и электрофоретического рассеяния света установлено, что ПЛК - RL/ИНД является микроразмерной системой (размер частиц $7,94 \pm 0,96$ мкм), ПЛК ЕРО/ИНД и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД являются наноразмерными системами (размер частиц 720 ± 198 нм и 505 ± 62 нм), при этом дзета-потенциал всех исследуемых комплексов имеет положительное значение. Методом ИК-спектроскопии установлено наличие в составе полученных полимер-лекарственных и интерполиэлектродит-

лекарственных комплексов всех исходных компонентов реакционной смеси. Методом дифференциальной сканирующей калориметрии с моделируемой температурой установлено, что полученные полимер-лекарственные и интерполиэлектролит-лекарственные комплексы являются индивидуальными соединениями и не содержат примесей сополимеров и индометацина. Методами ИК-, БИК-, КР-спектроскопии, ДСК-МТ и порошковой рентгеновской дифракции установлено, что индометацин, входящий в состав ПЛК ЕРО/ИНД и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД, находится в аморфной форме.

5. Исследован профиль высвобождения индометацина *in vitro* из ПЛК и ИПЭЛК в средах, имитирующих pH отделов ЖКТ. Высвобождение индометацина из порошка на основе ПЛК RL/ИНД 15:1 составило 10 % в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, после двух часов в среде с pH = 5,8 - 75 %, с последующим полным высвобождением через 7 часов эксперимента при повышении pH фосфатного буферного раствора до 7,4. ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 в виде порошков обеспечивают пролонгированное высвобождение индометацина в условиях, имитирующих pH отделов ЖКТ, которое достигает 50 % и 35 % (после 7 часов) соответственно.

6. Установлено, что порошок ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 обладает «удовлетворительной» сыпучестью и «хорошей» сжимаемостью.

7. Методом прямого прессования получены таблетки ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1. Высвобождение индометацина из полученных таблеток достигает 58% и 20 % после 10 часов эксперимента в условиях, имитирующих pH отделов ЖКТ, из ПЛК и ИПЭЛК, соответственно. Таким образом, таблетки на основе ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 демонстрируют более выраженное пролонгированное высвобождение индометацина по сравнению с препаратами – «Индометацин» (ООО «Озон», Россия) и «Метиндол[®]ретард» («MEDA PHARMA», Германия).

8. В условиях *in vivo* при пероральном введении кроликам определены основные фармакокинетические параметры ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 в форме порошков и таблеток в сравнении с ПЛК ЕРО/ИНД 3:1 и субстанцией

индометацина. Доказано, что ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 является практически нетоксичным (ЛД-50 не определяется при введении в желудок в максимальной дозе 3000 мг/кг) и не оказывает влияния на центральную нервную систему животных (мыши) при 14 дневном введении.

Практические рекомендации

«Порошок с индометацином для приготовления суспензии пролонгированного действия для приема внутрь» может производиться на предприятиях фармацевтической промышленности.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Интерполиэлектролит-лекарственный комплекс с индометацином может быть использован при разработке технологии получения различных пролонгированных лекарственных форм индометацина: таблетки, суспензии, микрокапсулы.

Список сокращений и условных обозначений

АЛГ-Na – альгинат натрия

БИК-спектроскопия – ближняя инфракрасная спектроскопия

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГФ – государственная фармакопея

ДРС – динамическое рассеяние света

ДСК-МТ – дифференциальная сканирующая калориметрия с моделируемой температурой

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия

ИНД - индометацин

ИПЭК – интерполиэлектролитный комплекс

ИПЭЛК – интерполиэлектролит-лекарственный комплекс

ИПЭР – интерполиэлектролитная реакция

ЛВ – лекарственное вещество

ЛФ – лекарственная форма

М.м. – молярная масса

МК – микрокапсулы

НПВО – нарушенное полное внутреннее отражение

НПВС – нестероидные противовоспалительные средства

ПЛК – полимер-лекарственный комплекс

УФ-спектрофотометрия – ультрафиолетовая спектрофотометрия

ЭРС – электрофоретическое рассеяние света

ЕЕ – эффективность инкапсулирования

ЕРО – Eudragit® ЕРО

L30D-55 – Eudragit® L30D-55

RL – Eudragit® RL30D

S100 – Eudragit® S100

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автина, Н.В. Разработка детской лекарственной формы на основе микрокапсул с метронидазолом // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Медицина. Фармация. – 2011. – № 4 (99). – Вып. 13. – С. 170–176.
2. Артюхов В.Г. Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств: учеб. пособие/В.Г. Артюхов, А.И.Сливкин; под ред. В.Г.Артюхова, А.И.Сливкина.– Воронеж: Издательство Воронежского государственного университета, 1999. – 368с.
3. Балабушевич, Н.Г. Включение белков в полиэлектролитные микрокапсулы из декстрана сульфата, протамина и меламина формальдегида / Н.Г. Балабушевич, Г.Б. Сухоруков, Н.И. Ларионова // Вестник Московского университета, серия 2. Химия. – 2002. – Т. 43. – № 6. – С. 374 – 377.
4. Блынская, Е.В. Разработка и биофармацевтическое исследование лекарственных форм гатифлоксацина на основе полимерных наночастиц : автореф. дис. ... канд. фармац. наук : 14.04.01, 14.03.06 / Блынская Евгения Викторовна. – М., 2010 – 24 с.
5. Бородина, Т.Н. Полиэлектролитные микрокапсулы как системы доставки биологически активных веществ / Т.Н. Бородина, Л.Д. Румш, С.М. Кунижев, Г.Б. Сухоруков, Г.Н. Ворожцов, Б.М. Фельдман, Е.А. Марквичева // Биомедицинская химия. – 2007. Т. 53. – № 5. – С. 557 – 565.
6. Буй, Т. З. К. Получение и изучение фармакологической активности спарфлоксацина, включенного в наночастицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот : автореф. дис. ... канд. фармац. наук : 14.04.02, 14.03.06 / Буй Тхи Зыонг Квинх. – М., 2010 – 24 с.
7. Буховец, А.В. Изучение интерполимерных комплексов на основе (мет)акриловых сополимеров Eudragit® с позиции использования их в качестве носителей для контролируемой доставки лекарственных веществ в заданные отделы кишечника / А.В. Буховец, А.Ю. Ситенков, В.Р. Гарипова, А.Р.

Шамсутдинова, Р.И. Мустафин // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр. – Пятигорск, 2011. – С. 362 – 363.

8. Буховец, А.В. Интерполиэлектролитные комплексы на основе Eudragit® EPO как перспективные системы для контролируемой доставки лекарственных веществ / Буховец А.В., Николаева Э.В., Ситенков А.Ю., Гарипова В.Р., Салахова А.Р., Мустафин Р.И. // Фундаментальные исследования – 2014. – №12 – с. 1226-1230.

9. Буховец, А.В. Разработка нового носителя на основе интерполиэлектролитного комплекса Eudragit® EPO/S100 для контролируемой доставки лекарственных веществ в толстый кишечник / А.В. Буховец, А.Ю. Ситенков, В.Р. Гарипова, Р.И. Мустафин // Здоровье и образование в XXI веке: Научные и прикладные аспекты концепции здоровья и здорового образа жизни: Сб. научн. трудов XI Междн. конгр. – М.: РУДН, 2010. – С. 593 – 594.

10. Ганина, В.И. Микрокапсулирование как способ защиты пробиотических культур от неблагоприятных условий / В.И. Ганина, Н.В.Ананьева, Л.В. Калинина // Материалы 2-й международной научно-практической конференции «Перспективы производства продуктов питания нового поколения»: сб. ст. – Омск: ФГОУ ВПО ОмГАУ. – 2005. – С.100-102.

11. Гельперина, С.Э. Разработка подходов к созданию лекарственных форм антибиотиков на основе полимерных наночастиц : автореф. дис. ... д. хим. наук : 03.01.06 / Гельперина Светлана Эмануиловна. – М., 2010. – 49 с.

12. Государственная Фармакопея Республики Беларусь. Т. 1. Общие методы контроля лекарственных средств / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общей ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: Тип. «Победа», 2012. – 1220 с.

13. Государственная Фармакопея XIII издание.

14. Демина, Н.Б. Нанотехнологические аспекты современной лекарственной формы / Н.Б. Демина, С.А. Скатков, А.И. Тенцова // Фармация. – 2012. – №4. – С. 47-50.

15. Демина, Н.Б. Перспективные стратегии развития технологии наноносителей /Н.Б. Демина, С.А. Скатков, А.И. Тенцова // Фармация. – 2012. – №7. – С. 53–55.
16. Добротворский А.Е. Перспективные направления в технологии лекарственных форм. Научный обзор «Тенденция развития фармации за рубежом»/ ВНИИМИ. – М., 1985. – с. 39–49.
17. Зезин А.Б., Рогачева В.Б. Полиэлектrolитные комплексы // Успехи химии и физики полимеров. – 1973. – С. 3–30.
18. Зезин, А.Б. Полиэлектrolитные комплексы / А.Б.Зезин, В.Б. Рогачева // Успехи химии и физики полимеров. – 1973. – С. 3–30.
19. Изумрудов В.А. Явления самосборки и молекулярного «узнавания» в растворах (био)полиэлектrolитных комплексов // Успехи химии, – 2008. – №4. – С. 401–415.
20. Кабанов В.А. Физико-химические основы и перспективы применения растворимых интерполиэлектrolитных комплексов (обзор)/В.А.Кабанов // Высокомолекулярные соединения. –1994. –Т. 36, № 2. – С. 183–197.
21. Кабанов, В.А. Взаимодействие противоположно заряженных сетчатых и линейных полиэлектrolитов / В.А Кабанов, А.Б. Зезин, В.Б. Рогачева // Доклады Академии Наук, – 1986. – №6. – С. 1408–1411.
22. Кабанова, Т.В. Разработка новых носителей на основе поли(мет)акрилатных комплексов для контролируемой доставки лекарственных веществ / Т.В. Кабанова, А.В. Буховец, Р.И. Мустафин, В.Р. Гарипова, Ш.Ф. Насибуллин // Актуальные вопросы повышения качества последипломной подготовки фармацевтических кадров: Материалы Респ. научн.-практ. конф. – Казань, 2010. – Вып. 2., С.84–87.
23. Киржанова, Е.А. Микро- и наночастицы из альгината и хитозана для трансмукозальной доставки белка / Е.А. Киржанова, М.А. Печенкин, Н.Б. Демина, Н.Г. Балабушевич // Вестник Московского университета. Серия 2 : Химия. – 2016.– Т.57. №2. – С.103–111.

- 24.** Климова, В.Л. Основные микрометоды анализа органических соединений / В.Л. Климова. – М.: Изд. 2-е доп. «Химия», 1975 - 224 с .
- 25.** Краюхина М.А., Самойлова Н.А., Ямсков И.А. Полиэлектrolитные комплексы хитозана: формирование, свойства и применение // Успехи химии, - 2008. – №9. – С. 854–869.
- 26.** Кролевец, А. А. Применение нано- и микрокапсулирования в фармацевтике и пищевой промышленности. Ч. 2. Характеристика инкапсулирования / А.А. Кролевец, Ю.А. Тырсин, Е.Е. Быковская // Вестник Российской академии естественных наук. – 2013. – №1. – С. 77–84.
- 27.** Кролевец, А.А. Применение нано- и микрокапсулирования в фармацевтике и пищевой промышленности. Часть 1. Основы микрокапсулирования / А.А. Королевец, Ю.А. Тырсин, Е.Е. Быковская // Вестник Российской академии естественных наук. – 2012. – № 4. – С. 123–127.
- 28.** Мустафин, Р.И. Биофармацевтическая оценка поликомплексной матричной системы доставки в толстый отдел кишечника на основе Carbomer 940/Eudragit® EPO / Р.И. Мустафин, Т.В. Кабанова, И.И. Сёмина, А.В. Буховец и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2011.– Т.45, №8. – С.41–44.
- 29.** Мустафин, Р.И. Изучение диффузионно-транспортных свойств поликомплексных матричных систем, образованных эудрагитами E100 и L100 / Р.И. Мустафин, Т.В. Кабанова // Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – Т. 39. – С. 34–38.
- 30.** Мустафин, Р.И. Модифицирование хитозана включением его в интерполиэлектrolитный комплекс с эудрагитом L / Р.И. Мутсафин, А.А. Протасова, Г. Ван ден Моотер, В.А. Кеменова // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 40. – С. 35 – 38.
- 31.** Мустафин, Р.И. Модифицирование эудрагита E включением его в интерполиэлектrolитный комплекс / Р.И. Мустафин, Г. Ван ден Моотер, В.А. Кеменова // Химико-фармацевтический журнал. –2005. –Т. 39. – №1. – С. 39 – 41.

- 32.** Мустафин, Р.И. Получение и исследование интерполиэлектrolитного комплекса, образованного эудрагитами марок E 100 и L100 / Р.И. Мустафин, Т.В. Кабанова //Химико-фармацевтический журнал. – 2004. –Т.38. –№ 11. –С. 39 – 41.
- 33.** Мустафин, Р.И. Получение и физико-химическая оценка нового носителя на основе интерполиэлектrolитного комплекса, образованного Eudragit® EPO и Carbomer 940 / Р.И. Мустафин, Т.В. Кабанова, Е.Р. Жданова, А.В. Буховец, В.Р. Гарипова, Ш.Ф. Насибуллин, В.А. Кеменова // Химико-фармацевтический журнал. – 2010. – Т.44. – № 5. – С. 39 – 41.
- 34.** Мустафин, Р.И. Разработка нового носителя на основе интерполиэлектrolитного комплекса Eudragit® EPO/S100 для контролируемой доставки лекарственных веществ в толстый кишечник / Р.И. Мустафин, А.В. Буховец, А.Ю. Ситенков, В.Р. Гарипова // Здоровье и образование в XXI веке: Научные и прикладные аспекты концепции здоровья и здорового образа жизни: Сб. научн. трудов XI Междн. конгр. – М.: РУДН, 2010. – С. 593 – 594.
- 35.** Мустафин, Р.И. Синтез и характеристика нового носителя на основе интерполиэлектrolитного комплекса Eudragit® EPO/S100 для контролируемой доставки в область толстого кишечника / Р.И. Мустафин, А.В. Буховец, А.Ю. Ситенков, В.Р. Гарипова, В.А. Кеменова, П. Ромбаут, Г. Ван ден Моотер // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – Т. 45, №9. – С.45–51.
- 36.** Мустафин, Р.И. Системы контролируемой доставки лекарственных веществ на основе интерполимерных комплексов с участием (мет)акриловых сополимеров / Р.И. Мустафин, А.В. Буховец, В.Р. Гарипова, А.Ю. Ситенков, А.Р. Салахова, Ш.Ф. Насибуллин, Е.С. Фролова, И.И. Сёмина // Тез.докл. XVIII Рос.нац.конгр. «Человек и лекарство», М., 2011. – С. 510.
- 37.** Мустафин, Р.И. Сравнительная оценка новых носителей для контролируемой доставки лекарственных веществ на основе Eudragit® EPO/L100 интерполиэлектrolитных комплексов / Р.И. Мустафин, А.В. Буховец, В.Р. Гарипова, А.Ю. Ситенков, А.Р. Шамсутдинова, В.А. Кеменова, П. Ромбаут, Г. Ван ден Моотер // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46, №8. – С.42–46.

- 38.** Мустафин, Р.И. Сравнительная фармакокинетическая оценка поликомплексных систем доставки диклофенака натрия на основе сополимеров Eudragit® / Р.И. Мустафин, И.И. Семина, А.В. Буховец, А.Ю. Ситенков, В.Р. Гарипова, А.Р. Салахова, В.А. Кеменова // Химико-фармацевтический журнал. – 2014. – Т.48 – №1. – С. 3–8.
- 39.** Мустафин, Р.И. Сравнительное фармакокинетическое исследование поликомплексных матричных систем на основе Eudragit® EPO/L100 / Р.И. Мустафин, А.В. Буховец, В.Р. Гарипова, А.Р. Салахова, А.Ю. Ситенков, И.И. Семина // Инновации в современной фармакологии: Материалы IV съезда фармакологов России – Казань, 2012. – С. 30.
- 40.** Мустафин, Р.И. Сравнительное физико-химическое исследование бинарных смесей на основе Eudragit® EPO и S100 / Р.И. Мустафин, А.В. Буховец, А.Ю. Ситенков // Здоровье человека в XXI веке: Материалы III Рос. научн.-практ. конф. – Казань, 2011. – С. 299 – 301.
- 41.** Мустафин, Р.И. Сравнительный мониторинг структурных и композиционных изменений в поликомплексных матрицах на основе Eudragit®EPO и Eudragit®L100/ Р.И. Мустафин, А.Б. Билан, А.В. Буховец, В.А. Кеменова // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – Т. 45, №2. –С. 53 – 56.
- 42.** Мустафин, Р.И. Физико-химическая и биофармацевтическая оценка поликомплексного носителя на основе химически комплементарных сополимеров Eudragit EPO и Eudragit S100 для направленной доставки лекарственных веществ в толстый кишечник / Р.И. Мустафин, А.В. Буховец, А.Ю. Ситенков, В.Р. Гарипова // Актуальные вопросы повышения качества последипломной подготовки фармацевтических кадров: Материалы Респ. научн.-практ. конф. – Казань, 2011. – Вып. 3., С.23 – 26.
- 43.** Мухидинов, З.К. Получение микрокапсул на основе яблочного пектина и β-лактоглобулина, содержащих рифампицин / З.К. Мухидинов, Г. Ф. Касимова, С. Р. Усманова, К. Б. Мурзагулова, М. Е. Ким, А. В. Янович // Химико-фармацевтический журнал – 2012. – Т. 46, № 5. – С. 46–49.

- 44.** ОСТ 91500.05.001-00. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения. – М.: МЗ РФ, 2000. – 38 с.
- 45.** Патент РФ № 2012109496/15 Способ получения микрокапсул лекарственных препаратов группы цефалоспоринов / Быковская Е.Е., Кролевец А.А. – опубл.13.03.2012.
- 46.** Патент РФ № 2012110715/15 Способ получения микрокапсул / Быковская Е. Е., Кролевец А.А. – опубл. 20.03.2012
- 47.** Патент РФ № 2082395 Таблетированная форма нитроглицерина пролонгированного действия патент российской федерации / Вишнякова Т.Н., Лазебник Л.Б., Шеремет С.П., Островский В.Г., Городничева Е.И., Синадская И.А., Юшкова Л.А., Васина Т.С., Любименко Т.Н., Буткарева Л.И., Рубан Л.П., Лисицин А.З. – опубл. 27.06.1997.
- 48.** Патент РФ № 2467766 Пероральная система доставки лекарственных веществ в область кишечника / Мустафин Р.И., Сёмина И.И., Буховец А.В., Гарипова В.Р., Насибуллин Ш.Ф., Ситенков А.Ю., Кабанова Т.В. – опубл.– 27.11.2012.
- 49.** Патент РФ №2011118789/15 Лекарственная форма дисульфирама пролонгированного действия и способ ее получения / Вилесов А.Д. – опубл. 10.05.2011.
- 50.** Печенкин, М.А. Использование ингибиторов протеаз в составе полиэлектролитных микрочастиц для увеличения биодоступностикапсулируемых белков при пероральном применении / Печенкин, М.А., Н.Г. Балабушевич, И.Н. Зоров, В.А. Изумрудов, Н.Л. Клячко, А.В. Кабанов, Н.И. Ларионова // Химико-фармацевтический журнал. – 2013. – Т. 47. – № 1. – С. 49 – 56.
- 51.** Постраш, Я.В. Микрокапсулирование в фармации – современное состояние и перспективы / Я.В. Постраш, О.М. Хишова // Вестник фармации. – 2010. – №2 (48). – С. 1–7.
- 52.** Регистр лекарственных средств России [Электронная версия].

- 53.** Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств [под ред. Миронова А.Н]. Москва, 2012 — 944 с.
- 54.** Сардушкин, М.В. Синтез и основные коллоидно-химические характеристики микрокапсул рифампицина, полученных методом простой коацервации : автореф. дис. ... канд. техн. наук : 02.00.11 / Сардушкин Макар Владимирович. – М., 2013. – 18 с.
- 55.** Семина, И.И. Изучение безвредности применения микро – и наноразмерных частиц с использованием (мет)акриловых сополимеров как систем направленной пероральной доставки лекарственных веществ в определенные отделы желудочно-кишечного тракта / И.И.Семина, Т.А. Кабанова, А.З. Байчурина, А.Ю. Ситенков, А.А. Протасова, Ш.Ф. Насибуллин, Р.И. Мустафин. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6. (<http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=23792>).
- 56.** Сильверстейн, Р. Спектрометрическая идентификация органических соединений / Р. Сильверстейн, Г. Басслер, Т. Моррил – Пер. с англ. – М.: Мир, 1977. – 592 с.
- 57.** Ситенков, А.Ю. Получение микрокапсул на основе интерполимерных комплексов методом ультразвукового распыления / А.Ю. Ситенков // Материалы 89-й Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – Казань. – 2015. – С. 445-446.
- 58.** Ситенков, А.Ю. Физико-химическое и фармацевтическое исследование сополимер-лекарственных комплексов на основе Eudragit EPO/S100 / А.Ю. Ситенков // Материалы 88-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых – Казань, 2014. – С.406–407.
- 59.** Солодовник, В.Д. Микрокапсулирование/ В.Д.Солодовник. – М.: Химия, 1980. – 216 с.
- 60.** Степанова, Э.Ф. Микрокапсулы: перспективы использования в современной фармацевтической практике / Э.Ф. Степанова, М.Е. Ким, К.Б. Мурзагулова, С.Б. Евсеева // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 3–4. – С. 766–769.

- 61.** Фармацевтическая разработка: концепция и практические рекомендации. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли / Под ред. Быковского С.Н., Василенко И.А., Деминой Н.Б., Шохина И.Е., Новожилова О.В., Мешковского А.П., Спицкого О.Р. – М. Изд-во Перо, 2015. – 472 с.
- 62.** Ahlin, P. Investigation of polymeric nanoparticles as carriers of enalaprilat for oral administration / P. Ahlin, J. Kristl, A. Kristl, F. Vrecer // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2002. – Vol.239. – P. 113–120.
- 63.** Ahlin, P. The manufacturing techniques of drug-loaded polymeric nanoparticles from preformed polymers / P. Ahlin, J. Kristl // *Journal of Microencapsulation*. – 2011. – Vol. 28. – P. 323–335.
- 64.** Ai, H. Biomedical Applications of Electrostatic Layer-by-Layer Nano-Assembly of Polymers, Enzymes, and Nanoparticles / H. Ai, S.A. Jones, Yu.M. Lvov // *Cell Biochemistry and Biophysics*. – 2003. – Vol. 39. – P. 23–39.
- 65.** Amaral, E. Cardiotoxicity reduction induced by halofantrine entrapped in nanocapsule devices / Amaral, E., Grabe-Guimarras, A., Nogueira, H., Machado, G.L., Barratt, G., Mosqueira, V. // *Life Science*. – 2007. – Vol. 80. – P. 1327–1334.
- 66.** Amsden, B. The production of uniformly sized polymer microspheres / B. Amsden // *Pharmaceutical research*. – 1999. – Vol. 16. – P. 1140-1143.
- 67.** Aubert-Pouessel, A. Preparation of PLGA of PLGA microparticles by an emulsion extraction process using glycofurol as polymer solvent / A. Aubert-Pouessel, M.-K. Venier-Julienne // *Pharm. Res.* – 2004. – Vol.21– P. 2384–2391.
- 68.** Ayush, G. Microencapsulation techniques in pharmaceutical formulation / G. Ayush, C. Kapil, K. Lalit // *European journal of pharmaceutical and medical research*. – 2018. – Vol. 5. – P. 199–206.
- 69.** Barakat, N. Diclofenac sodium loaded-cellulose acetate butyrate: Effect of processing variables on microparticles properties, drug release kinetics and ulcerogenic activity / N. Barakat, A. Ahmad // *Journal of microencapsulation*. – 2008. – Vol. 25. – P. 31–45.

- 70.** Barba, A.A. Biocompatible nano-micro-particles by solvent evaporation from multiple emulsions technique / A. Barba, A. Dalmoro, M. d'Amore, C. Vascello, G. Lamberti // *Journal of Materials Science*. – 2014. – Vol. 49(14). – P. 5160–5170.
- 71.** Barba, A.A. Controlled Release of Drugs from Microparticles Produced by Ultrasonic Assisted Atomization Based on Biocompatible Polymers / A. Barba, A. Dalmoro, M. d'Amore, G. Lamberti // *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*. – 2012. – Vol. 26. – P. 345–353.
- 72.** Barba, A.A. Liposoluble vitamin encapsulation in shell–core microparticles produced by ultrasonic atomization and microwave stabilization // A.A. Barba, A. Dalmoro, M. d'Amore, G. Lamberti // *LWT - Food Science and Technology*. – 2015. – Vol. 64. – P. 149–156.
- 73.** Benita S. *Microencapsulation: methods and industrial applications* / S. Benita. – London: CRC Press, 2006. – 781 p.
- 74.** Beyger, J. Some factors affecting the microencapsulation of pharmaceuticals with cellulose acetate phthalate / J. Beyger, J. Nairn // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 1986. – Vol. 75. – P. 573–578.
- 75.** Bhis, K.S. Effect of Oppositely Charged Polymer and Dissolution Medium on Swelling, Erosion, and Drug Release From Chitosan Matrices / K.S. Bhis, R.S. Dhumal, B. Chauhan, A. Paradkar, S.S. Kadam // *AAPS PharmSciTech*. – 2007. – Vol. 8(2). – P. E1 – E9.
- 76.** Bilati, U. Nanoprecipitation versus emulsion-based techniques for the encapsulation of proteins into biodegradable nanoparticles and process-related stability issues / U. Bilati, E. Alle'mann, E. Doelker // *AAPS PharmSciTech*. – 2005. – Vol. 6. – P. 594–604.
- 77.** Bilati, U. Strategic approaches for overcoming peptide and protein instability within biodegradable nano- and microparticles / U. Bilati, E. Allemann, E. Doelker // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* – 2005. – Vol. 59. – P. 375–388.
- 78.** Bittner, B. Ultrasonic atomization for spray drying: a versatile technique for the preparation of protein loaded biodegradable microspheres / B. Bittner, T. Kissel // *Journal of microencapsulation*. – 1999. – Vol. 16. – P. 325–341.

- 79.** Boon, V. High-Performance Liquid Chromatographic Assay of Indomethacin in Porcine Plasma with Applicability to Human Levels / B. Virginia, B. Glass, A. Nimmo // *Journal of Chromatographic Science*. – 2006. – Vol. 44. – P. 41–44.
- 80.** Burke, P. Poly (lactide-co-glycolide) microsphere formulations of darbepoetin alfa: spray drying is an alternative to encapsulation by spray-freeze drying / P. Burke, L. Klumb, J. Herberger, X. Nguyen, R. Harrell, M. Zordich // *Pharmaceutical research*. – 2004. – Vol. 21. – P. 500–506.
- 81.** Cascone, S. Microencapsulation effectiveness of small active molecules in biopolymer by ultrasonic atomization technique / S. Cascone, G. Lamberti, G. Titomanlio, A.A. Barba, M. d'Amore // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2012. – Vol. 38. – P. 1486–1493.
- 82.** Chen, H. Preparation of ethylcellulose microcapsules containing theophylline by using emulsion non-solvent addition method / H. Chen, J. Wu, H. Chen // *Journal of microencapsulation*. – 1995. – Vol.12. – P.137–147.
- 83.** Chorny, M. Lipophilic drug loaded nanospheres prepared by nanoprecipitation: effect of formulation variables on size; drug recovery and release kinetics /M. Chorny, I. Fishbein, H.D. Danenberg, G. Golomb // *Journal of Control Release*. – 2002. – Vol . 83. – P. 389–400.
- 84.** Cohen-Sela, E. A new double emulsion solvent diffusion technique for encapsulating hydrophilic molecules in PLGA nanoparticles / E. Cohen-Sela, M. Chorny, N. Koroukhov, H.D. Danenberg, G. Golomb // *Journal of Control Release*. - 2009. – Vol.133. – P.90–95.
- 85.** Collnot, E.-M. Nano- and microparticulate drug carriers for targeting of the inflamed intestinal mucosa / E.-M. Collnot , A. Hussain, C.-M. Lehr // *Journal of Controlled Release*. – 2012. – Vol. 161. P. 235–246.
- 86.** Colombo, P. *Principi di tecnologie farmaceutiche* /P. Colombo, P. Catellani, A. Gazzaniga, E. Menegatti, E. Vidale. - Milan : Casa Editrice Ambrosiana, 2004. –800 p.
- 87.** Cook, M.T. Production and Evaluation of Dry Alginate-Chitosan Microcapsules as an Enteric Delivery Vehicle for Probiotic Bacteria / M. T. Cook, G. Tzortzis, D.

Charalampopoulos, V. V. Khutoryanskiy // *Biomacromolecules*. – 2011. – Vol. 12. – P. 2834–2840.

88. Cruz, L. Diffusion and mathematical modeling of release profiles from nanocarriers / L. Cruz, L.U. Soares, T.D. Costa, G. Mezzalana, N.P. da Silveira, S.S. Guterres, A.R. Pohlmann // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2006. – Vol. 313. – P. 198–205.

89. Dalmoro, A. Enteric shell-core microparticles production by coupling ultrasonic atomization and polyelectrolytes complexation / R.I. Moustafine, A. Dalmoro, A. Y. Sitenkov, G. Lamberti, A.A. Barba // 42nd Annual Meeting & Exposition of the CRS. – Edinburgh, Scotland.– 2015.

90. Dalmoro, A. Hydrophilic drug encapsulation in shell-core microcarriers by two stage polyelectrolyte complexation method / A. Dalmoro, A.Y. Sitenkov, S. Cascone, G. Lamberti, A.A. Barba, R.I. Moustafine // *International Journal of Pharmaceutics*.– 2017.–Vol.518(1–2).–P.50–58.

91. Dalmoro, A. Novel technologies and process intensification in the production of micro-systems with pharmacological/nutraceutical activity. – Salerno, 2013. – 142 p.

92. Dalmoro, A. Ultrasonic atomization and polyelectrolyte complexation to produce gastroresistant shell–core microparticles / A.Dalmoro, A.Y. Sitenkov, G.Lamberti, A. A. Barba, R.I. Moustafine // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2016. – Vol. 133(6). – P. 42976.

93. Dalmoro, A. Single-Pot Semicontinuous Bench Scale Apparatus to Produce Microparticles / A. Dalmoro, A. A. Barba, M. d' Amore, G. Lamberti // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2014. – Vol.53(7). – P. 2771–2780.

94. Delair, T. Colloidal polyelectrolyte complexes of chitosan and dextran sulfate towards versatile nanocarriers of bioactive molecules / T. Delair // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2011. – Vol. 78. – P. 10-18.

95. DuBois R. N. Colorectal Cancer and Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs/ R. N. DuBois, Walter E. S.//*Advances in Pharmacology*.–1997.– V.39.– P. 1–20.

96. Dupeyrón, D. Design of indomethacin-loaded nanoparticles: effect of polymer matrix and surfactant / D. Dupeyrón, M. Kawakami, A.M. Ferreira, P.R. Cáceres-

Vélez, J. Rieumont, R.B. Azevedo, J.C. Carvalho // *International Journal of Nanomedicine*. – 2013. – Vol. 8. – P. 3467–3477.

97. Fattal, E. Nanoparticles as drug delivery systems. In: Swarbrick, J., Boylan, J.C. (Eds.), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. / Fattal, E., Vauthier, C. – Marcel Dekker, New York. – 2002. – P. 1864–1882.

98. Fessi, H. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement / H. Fessi, F. Puisieux, J.P. Devissaguet, N. Ammoury, S. Benita // *International Journal of Pharmacy*. – 1989. – Vol. 55. – P. R1–R4.

99. Freiberg, S. Polymer microspheres for controlled drug release / S. Freiberg, X.X. Zhu // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2004. – Vol. 282. – P. 1 – 18.

100. Freitas, S. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology / S. Freitas, H. Merkle, B. Gander // *Journal of controlled Release*. – 2005. - Vol. 102. – P. 313-332.

101. Furtado, V.C. Biodistribution of long-circulating PEG-grafted nanocapsules in mice: effects of PEG chain length and density / V.C. Furtado, P. Legrand, J.L. Morgat, M. Vert, E. Mysiakine, R. Gref, J.P. Devissaguet, G. Barratt // *Pharmaceutical Research*. – 2001. – Vol. 18. – P. 1411–1419.

102. Furtado, V.C. Relationship between complement activation, cellular uptake and surface physicochemical aspects of novel PEG-modified nanocapsules / V.C. Furtado, P. Legrand, A. Gulik, O. Bourdon, R. Gref, D. Labarre, G. Barratt // *Biomaterials*. – 2001. – Vol. 22. – P. 2967–2979.

103. Gabor, F. Ketoprofen-poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) microspheres: influence of manufacturing parameters and type of polymer on the release characteristics / F. Gabor, B. Ertl, M. Wirth, R. Mallinger // *Journal of microencapsulation*. – 1999. – Vol.16. – P. 1–12.

104. Galindo-Rodriguez, S.A. Comparative scale-up of three methods for producing ibuprofen-loaded nanoparticles / S.A. Galindo-Rodriguez, F. Puel, S. Briancon, E. Allemann, E. Doelker, H. Fessi // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2005. – Vol.25. – P.357–367.

- 105.** Gallardo, D. Manufacturing of matrix tablets by combining countercharged poly(meth)acrylate polymers to provide sustained release of highly soluble drug / D. Gallardo—2008. – 156 p.
- 106.** Garti, N., Double emulsions—scope, limitations and new achievements / N. Garti // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*/ –1997.– Vol.123–124.– P. 233–246.
- 107.** Gouin, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends / S. Gouin // *Trends in Food Science & Technology*. - 2004. – Vol. 15. 330-347.
- 108.** Graves, R. Encapsulation of Indomethacin Using Coaxial Ultrasonic Atomization Followed by Solvent Evaporation / R. Graves, D. Poole, R. Moiseyev, L. Bostanian, T. Mandal// *Drug development and industrial pharmacy*. – 2008.– Vol. 34. – P. 419–426.
- 109.** Grigoriev, D. Mono- and multilayer covered drops as carriers / D. Grigoriev, R. Miller// *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. –2009. –Vol. 14. – P. 48–59.
- 110.** Guinebreière, S. Nanocapsules of biodegradable polymers: preparation and characterization by direct high resolution electron microscopy / S. Guinebreière, S. Briancçon, H. Fessi, V.S. Teodorescu, M.G. Blanchin // *Materials Science and Engineering*. – 2002. – Vol. 21. – P. 137–142.
- 111.** Gurny, R. Development of biodegradable and injectable latices for controlled release of potent drugs / R. Gurny, N.A. Peppas, D.D. Harrington, G.S. Banker // *Drug Development and Industrial Pharmacy*.– 1981.– Vol. 7. – P.1–25.
- 112.** Gusman, M.L. Eudragit E100 as drug carrier: the remarkable affinity of phosphate ester for dimethylamine / M.L. Gusman, R.H. Manzo, M.E. Olivera // *Mol. Pharm.* - 2012. – Vol. 9. – P. 2424–2433.
- 113.** Hartig, S.M. Multifunctional Nanoparticulate Polyelectrolyte Complexes / S.M. Hartig, R.R. Greene, M.M. Dikov, A. Prokop, J.M. Davidson // *Pharmaceutical Research*. – 2007. – Vol. 24(12). – P. 2353 – 2369.
- 114.** Heinz, A. Quantifying ternary mixtures of different solid-state forms of indomethacin by Raman and near-infrared spectroscopy / A. Heinz, M. Savolainen,

T. Rades, C.J. Strachan // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2007. – Vol. 32. – P.182–192.

115. Herrmann, J. Biodegradable, somatostatin acetate containing microspheres prepared by various aqueous and nonaqueous solvent evaporation methods / J. Herrmann, R. Bodmeier // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 1998. – Vol. 45. – P. 75–82.

116. Hiroaki, J. Process for preparing noncohesive coating layer / J. Hiroaki, K. Eri // *Eur. J. Pharm. and Biopharm.* – 1999. – Vol.25. –P.120–124.

117. Hong-Mei W. Indomethacin suppresses growth of colon cancer via inhibition of angiogenesis *in vivo*/ W. Hong-Mei, G.Y. Zhang//*World J Gastroenterol*. – 2005. – V. 11(3) – P. 340–343.

118. Ibezim, E.C. Release properties of microcapsules prepared with lymerized latex of *Landolphia dulcis* / E.C.Ibezim, C.O.Esimone, M.U.Adikwu // *Acta pharm.* – 1998. – Vol. 48. – P.111–118.

119. Kabanov, V.A. Polyelectrolyte complexes in solution and in bulk / V.A. Kabanov // *Russian Chem. Reviews*. – 2005. – Vol.74. – P. 3–20.

120. Kamei, S. Method of producing sustained–release microcapsules / S. Kamei, M. Yamada, Y.Ogawa // *J. Pharm. and Pharmacol.* – 1999. – Vol.6. – P.212–227.

121. Kao, J.Y. Measurement of amorphous indomethacin stability with NIR and Raman spectroscopy / J.Y. Kao, C. M. McGoverin, K.A. Graeser, T. Rades, K.C. Gordon // *Vibrational Spectroscopy*. – 2012. – Vol. 58. – P. 19–26.

122. Khan, I. A. A comparative study of interaction of ibuprofen with biocompatible polymers / I. A. Khan, K. Anjum, M.S.Ali, K. Din // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2011. – Vol. 88. – P. 72–77.

123. Khoe, S. An investigation into the role of surfactants in controlling particle size of polymeric nanocapsules containing penicillin-G in double emulsion / S. Khoe, M. Yaghoobian // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2009. – Vol. 44. – P. 2392–2399.

- 124.** Khutoryanskiy, V.V. Hydrogen-bonded interpolymer complexes as materials for pharmaceutical applications / V.V. Khutoryanskiy // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2007. – Vol. 334. – P. 15 – 26.
- 125.** Kindermann, C. Electrolyte-stimulated biphasic dissolution profile and stability enhancement for tablets containing drug-polyelectrolyte complexes / C. Kindermann, K. Matthee, F. Sievert, J. Breitzkreutz // *Pharm. Res.* – 2012. – Vol. 29 (10). – P. 2710–2721.
- 126.** Kindermann, C. Tailor- made release triggering from hot-melt extruded complexes of basic polyelectrolyte and poorly water-soluble drugs / C. Kindermann, , K. Matthee, J. Strohmeyer, F. Sievert, J. Breitzkreutz // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* – 2011. – Vol. 79. – P. 372–381.
- 127.** Kino, S. Sustained release microsphere preparation containing antipsychotic drug / S. Kino, T. Osajima, H.Mizuta // *J. Pharm. and Pharmacol.* – 2000. – Vol.12. – P.421–430.
- 128.** Kobayashi, M. Method for producing sustained release microsphere preparation / M. Kobayashi, Y. Nishioka // *J. Pharm.And Pharmacol.* – 1999. –Vol.10.–P.156–161.
- 129.** Kocbek, P. Targeting cancer cells using PLGA nanoparticles surface modified with monoclonal antibody / P. Kocbek, N. Obermajer, M. Cegnar, J. Kos, J. Kristl // *Journal of Control Release*. – 2007. – Vol.120. – P.18–26.
- 130.** Kramer, P. Albumin microspheres as vehicles for achieving specificity in drug delivery / P. Kramer // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. –1974. – Vol.63. – P. 1646–1647.
- 131.** Kristl, J. Hydrocolloids and gels of chitosan as drug carriers / J. Kristl, J. Smidkorbar, E. Struc, M. Schara, H. Rupprecht // *International Journal of Pharmaceutics*. – 1993. – Vol. 99. – P. 13–19.
- 132.** Kwon, H.Y. Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification-diffusion method / Kwon HY, Lee JY, Choi SW, Jang Y, Kim JH // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspect*. – 2001.– Vol.182.- P.123–130.

- 133.** Lai, M. Microencapsulation of acetaminophen into poly (L-lactide) by three different emulsion solvent-evaporation methods / M. Lai, R. Tsiang // *Journal of microencapsulation*. – 2005. – Vol. 22. – P. 261–274.
- 134.** Legrand, P. Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation / P. Legrand, S. Lesieur, A. Bochot, R. Gref, W. Raatjes, G. Barratt, C. Vauthier // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2007. – Vol.344. – P. 33–43.
- 135.** Li, M. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches / M. Li, O. Rouaud, D. Poncelet // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2008. – Vol. 363. – P. 26–39.
- 136.** Liechty, W.B. Expert opinion: Responsive polymer nanoparticles in cancer therapy / W.B. Liechty, N.A. Peppas // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2012. – Vol. 80(2). – P. 241 – 246.
- 137.** Lin, H.L. DSC-FTIR Combined Approaches Used to Simultaneously Prepare/Determine the Amorphous Solid Dispersions of Indomethacin/Soluplus in Real-time / H.L. Lin, Y.T. Chi, Y.T. Huang, C.Y. Kao, S.Y. Lin // *Pharmaceutical Science*. – 2015. – Vol. 2. – P. 183-193.
- 138.** Lince, F. Strategies to control the particle size distribution of poly-ε-caprolactone nanoparticles for pharmaceutical applications / F. Lince, D.L. Marchisio, A.A. Barresi // *Journal of Colloid Interface Science*. – 2008. – Vol. 322. – P. 505–515.
- 139.** Liu, H. *Science and engineering of droplets: fundamentals and applications* / H. Liu. – New York : William Andrew, 2000. – 528 p.
- 140.** Liu, H., (2012). Miscibility Studies of Indomethacin and Eudragit® E PO by Thermal, Rheological, and Spectroscopic Analysis / H. Liu, X. Zhang , H. Suwardie, P.Wang, C. G. Gogos // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2012. – Vol.101. – P. 2204–2212.
- 141.** Lorenzo-Lamoza, M.L. Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery / M.L. Lorenzo-Lamoza, R. C. nán-Lopez, , J.L.Vila-Jato, M.J. Alonso // *J. Control. Release*. – 1998. – Vol.52. – P. 109–118.

- 142.** Ma, J. An improved interfacial coacervation technique to fabricate biodegradable nanocapsules of an aqueous peptide solution from polylactide and its block copolymers with poly(ethylene glycol) / J. Ma, P. Feng, C. Ye, Y. Wang, Y. Fan // *Colloid Polymer Science.* – 2001. – Vol. 279. – P. 387–392.
- 143.** Maa, Y. Microencapsulation reactor scale-up by dimensional analysis / Y. Maa, C. Hsu // *Journal of microencapsulation.* – 1996. – Vol. 13. – P. 53-66.
- 144.** Mallick, S. Development and characterization of release profile of buprenorphine as an effective controlled release system / S.Mallick, D.R.Gupta, S.K.Ghosal // *J. Sci. and Ind. Res.* – 1999. – Vol.58. – P.1010–1016.
- 145.** Mandal, T. K. Development of biodegradable drug delivery system to treat addiction /T.K.Mandal // *Drug Dev. and Ind. Pharm.* –1999. – Vol. 6. – P.773–779.
- 146.** Mandal, T. K. Evaluation of a novel phase separation technique for the encapsulation of water-soluble drugs in biodegradable polymer / T.K.Mandal // *Drug Development and Industrial Pharmacy.* – 1998. – Vol. 7. – P.623–629.
- 147.** Mastiholimath, V.S. Time and pH dependent colon specific, pulsatile delivery of theophylline for nocturnal asthma / V.S. Mastiholimath, P.M. Dandagi, S.S. Jain, A.P. Gadad, A.R. Kulkarni // *International Journal of Pharmaceutics.* – 2007. – Vol. 328. – P. 49–56.
- 148.** Mora-Huertasa, C.E. Polymer-based nanocapsules for drug delivery / C.E. Mora-Huertasa, H. Fessi, A. Elaissari // *International Journal of Pharmaceutics.* – 2010. – Vol. 385. – P. 113–142
- 149.** Morimoto, Y. Drug-carrier property of albumin microspheres in chemotherapy. V. Antitumor effect of microsphereentrapped adriamycin on liver metastasis of AH 7974 cells in rats / Y. Morimoto, K. Sugibayashi, Y. Kato // *Chem. Pharm. Bull.* – 1981. – Vol. 29. – P.1433–1438.
- 150.** Moustafine R.I. Interpolyelectrolyte complexes of Eudragit EPO with sodium alginate as potential carriers for colonic drug delivery: monitoring of structural transformation and composition changes during swellability and release evaluating / Moustafine R.I., A.R. Salachova, E.S. Frolova, V.A. Kemenova, Guy Van den

Mooter // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2009. – Vol. 35 (12). – P. 1439–1451.

151. Moustafine, R. I. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E 100 with sodium alginate / R.I. Moustafine, V.A. Kemenova, G.Van den Mooter // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2005. – Vol. 294. – P.113–120.

152. Moustafine, R.I. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E100 with Eudragit L100 / R.I. Moustafine, T.V. Kabanova, V.A. Kemenova, G.V. den Mooter // *Journal of Controlled Release*. – 2005. – Vol. 103. – P. 191 – 198.

153. Moustafine, R.I. Drug release modification by interpolymer interaction between countercharged types of Eudragit® RL 30D and FS 30D in double-layer films / R.I. Moustafine, A. V. Bodrov, V.A. Kemenova, P. Rombaut, G. Van den Mooter // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2012. – Vol. 439. – P. 17–21.

154. Moustafine, R.I. Eudragit® E PO as a complementary material for designing oral drug delivery systems with controlled release properties: comparative evaluation of new interpolyelectrolyte complexes with countercharged Eudragit® L100 copolymers / R.I. Moustafine, A. V. Bukhovets, A.Y. Sitenkov, V.A. Kemenova, P. Rombaut, G. Van den Mooter // *Molecular Pharmaceutics*. – 2013. – Vol.10, №7. – P.2630–2641.

155. Moustafine, R.I. Eudragit® EPO/S100 interpolyelectrolyte complex as a matrix carrier for colon-specific delivery / R.I. Moustafine, A.V. Bukhovets, V.R. Garipova, A.Y. Sitenkov // *Transact. 38th Annual Meeting & Exposition of the CRS*. – Maryland, U.S.A., 2011. – Abstr. 690.

156. Moustafine, R.I. Indomethacin-containing interpolyelectrolyte complexes based on Eudragit® EPO/S100 copolymers as a novel drug delivery system / R.I. Moustafine, A.V. Bukhovets, A.Y. Sitenkov Sh.F. Nasibullin, B. Appeltans, T.V. Kabanova, V.V. Khutoryanskiy, G.Van den Mooter // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2017. – Vol. 524. – P. 121–133.

157. Moustafine, R.I. Physicochemical and pharmaceutical evaluation of interpolyelectrolyte complexes based on Eudragit® E PO and S 100 in aqueous salt

medium / A.V. Bukhovets, A. Y. Sitenkov R.I. Moustafine // 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences. – Ankara, Turkey, 2012. – P.229.

158. Moustafine, R.I. Physicochemical characterization and drug release properties of Eudragit[®] E PO/ Eudragit[®] L100-55 interpolyelectrolyte complexes /R.I. Moustafine, I.M. Zaharov, V.A. Kemenova // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2006. – Vol. 63. – P. 26–36.

159. Moustafine, R.I. Structural transformations during swelling of polycomplex matrices based on countercharged (meth)acrylate copolymers (Eudragit[®] E PO/Eudragit[®] L 100-55) / R.I. Moustafine, V.L. Bobyleva, A.V. Bukhovets, V.R. Garipova, T.V. Kabanova, V.A. Kemenova, G. Van den Mooter // Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2011. – Vol.100, №3. – P.874–885.

160. Nagarwal, R.C. Polymeric nanoparticulate system: A potential approach for ocular drug delivery / R.C. Nagarwal, S. Kant, P.N. Singh, P. Maiti, J.K. Pandit // Journal of Controlled Release. – 2009. – Vol.136. – P. 2–13.

161. Niopas, I. Determination of indomethacin and mefenamic acid in plasma by high-performance liquid chromatography / I. Niopas, K. Mamzoridi // Journal of Chromatography. – 1994. - Vol. 656. – P. 447–450.

162. Obeidat, W. Preparation and evaluation of Eudragit S100 microspheres as pH-sensitive release preparations for piroxicam and theophylline using the emulsion-solvent evaporation method / W. Obeidat, J. Price // Journal of microencapsulation. – 2006. –Vol. 23. – P. 195–202.

163. Otsuka, M. Comparative Evaluation of the Degree of Indomethacin Crystallinity by Chemoinfometrical Fourie-Transformed Near-Infrared Spectroscopy and Conventional Powder X-Ray Diffractionometry / M. Otsuka, F. Kato, Y. Matsuda // AAPS Pharmsci. – 2000. – Vol. 2. – P. 80–87.

164. Ourique, A.F. Tretionoin-loaded nanocapsules: preparation, physicochemical characterization, and photostability study / A.F. Ourique, A.R. Pohlmann, S.S. Guterres, R.C.R. Beck / International Journal of Pharmaceutics. – 2008. – Vol. 352. – P. 1–4.

- 165.** Oyarzun-Ampueroa, F.A. Chitosan–hyaluronic acid nanoparticles loaded with heparin for the treatment of asthma / F.A. Oyarzun-Ampueroa, J. Breab, M.I. Lozab, D. Torres, M.J. Alonso // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2009. – Vol. 381. – P. 122–129.
- 166.** Palena, M. C. Self-organized nanoparticles based on druginterpolyelectrolyte complexes as drug carriers M. C. Palena, R. H. Manzo, A. F. Jimenez-Kairuz // *Journal of Nanopartical Research*. - 2012. – Vol. 14. – P. 867.
- 167.** Palmieri, G.F. Gelatin–acacia complex coacervation as a method for ketoprofen microencapsulation/ G.F.Palmieri, S.Martell, D.Lauri // *Drug Development and Industrial Pharmacy* – 1996.– № 9 – 10. – P.951–957.
- 168.** Perez, C. Poly(lacticacid)-poly(ethylene glycol) nanoparticles as new carriers for the delivery of plasmid DNA / C. Perez, A. Sanchez, D. Putnam, D. Ting, R. Langer, M.J. Alonso// *Journal of Controlled Release*. – 2001. – Vol. 75. – P. 211–224.
- 169.** Perumal, D. Microencapsulation of ibuprofen and Eudragit® RS 100 by the emulsion solvent diffusion technique / D. Perumal // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2001. – Vol. 218. – P. 1-11.
- 170.** Quintanar, D. Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification–diffusion technique / D. Quintanar, E. Allemann, E. Doelker, H. Fessi// *Pharmaceutical Research*.- 1998.- Vol. 15. – P. 1056–1062.
- 171.** Quintanar, D. Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers / Quintanar, D., Allemann, E., Fessi, H., Doelker, E. // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 1998.- Vol. 24. – P. 1113–1128.
- 172.** Quinteros, D.A. Design of a colonic delivery system based on cationic polymethacrylate (Eudragit E100)-mesalamine complexes / D.A. Quinteros, R.H. Manzo, D.A. Allemandi // *Drug Delivery*. - 2011. - Vol.17 (4). – P. 208–213.
- 173.** Quinteros, D.A. Interaction between Eudragit1 E100 and anionic drugs: addition of anionic polyelectrolytes and their influence on drug release performance / D.A.

Quinteros, R.H. Manzo, D.A. Allemandi // *J. Pharm. Sci.* - 2011. – Vol.100 (11). – P. 4664–4673.

174. Radtchenko, I.L. Incorporation of macromolecules into polyelectrolyte micro- and nanocapsules via surface controlled precipitation on colloidal particles / I.L. Radtchenko, G.B. Sukhorukov, H. Mohwald // *Colloid and Surfaces A.* – 2002. – Vol. 202. – P. 127–133.

175. Ranjita, Sh. Present Status of Nanoparticle Research for Treatment of Tuberculosis / Sh. Ranjita, Al. Sh. Loaye, M. Khalil // *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* – 2011. – № 14(1). – P. 100–116.

176. Rawat, M. Influence of selected formulation variables on the preparation of enzyme-entrapped eudragit S100 microspheres / M. Rawat, Sh. Saraf, Sw. Saraf // *AAPS PharmSciTech.* – 2007. – Vol. 8. – P. 289–297.

177. Ré, M. Preparation of microspheres of ketoprofen with acrylic polymers by a quasi-emulsion solvent diffusion method / M. Ré, B. Biscans // *Powder Technology.* - 1999. – Vol. 101. – P. 120–133.

178. Sansdrap, P. Influence of manufacturing parameters on the size characteristics and the release profiles of nifedipine from poly (DL-lactide-co-glycolide) microspheres / P. Sansdrap, A.J. Moes // *International Journal of Pharmaceutics.* – 1993.– Vol. 98.– P. 157–164.

179. Scheffel, U. Albumin microspheres for study of the reticuloendothelial system / U. Scheffel, B.A. Rhodes, T.K. Natarajan, H.N. Wagner // *J. Nucl Med.* – 1972. – Vol.13. – P. 498–503.

180. Senthil kumar, S. Preparation and characterization of indomethacin loaded ionically crosslinked microspheres using chitosan / S. Senthil kumar, Avik kumar saha, Kunchu kavitha, Sanat Kumar Basu // *Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre.* – 2012. – Vol. 4. – P. 33-41

181. Shabbeer, Sh. Formulation and evaluation of Chitosan Sodium Alginate microcapsules of 5-fluorouracil for Colorectal cancer / Sh. Shabbeer, K.V.

Ramanamurthy // International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry. – 2012. – Vol. 2(1). – P. 7 – 19.

182. Shah, N.P. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts / N.P. Shah // Australian Journal of Dairy Technology – 2000. – Vol. 55. – P. 139–144.

183. Sipos, P. Influence of preparation conditions on the properties of Eudragit microspheres produced by a double emulsion method / P. Sipos, I. Csóka, S. Srčić, K. Pintye-Hódi, I. Erős // Drug Development Research. – 2005. – Vol. 64. – P. 41-54.

184. Specification of Eudragit polymers /Rohm Pharma, 1998.

185. Stephen, R. B. Solid-State Properties of Pharmaceutical Materials / R.B. Stephen, G. Zograf. – Hoboken.: John Wiley & Sons, 2017 – 432 p.

186. Strachan, C.J. A theoretical and spectroscopic study of gamma-crystalline and amorphous indometacin / C.J. Strachan, T. Rades, K.C. Gordon // J Pharm Pharmacol. – 2007. – Vol.59. – P.261–269.

187. Thakker, Sh.P. Aminabhavi Inter-polymer complex microspheres of chitosan and cellulose acetate phthalate for oral delivery of 5-fluorouracil / Sh.P. Thakker, A.P. Rokhade, Sh.S. Abbigerimath, S.R. Iliger, V.H. Kulkarni, U.A. More, T.M. // Polymer Bulletin. – 2014. – Vol. 71. – № 8. – P. 2113 – 2131.

188. Tsung, M. Preparation and stabilization of heparin/gelatin complex coacervate microcapsules/ M. Tsung, D.G. Burgess // J. Pharm. Science. – 1998. – Vol.86 – P.603–611.

189. United State Pharmacopeia and National Formulary. USP 31/NF 26, 2008.

190. US Patent № 5,654,008 Preparation of biodegradable, biocompatible microparticles containing a biologically active agent / Herbert P.F., Hazrati A.M.

191. US Patent № 6,471,995 B1 Apparatus and method for preparing microparticles using liquid-liquid extraction / Ramstack J. M. – 29.10.2002.

192. US Patent № 6884438 Method for preparing vesicular nanocapsules / Quintanar D., Fessi H., Doelker E., Alleman E. – 26.04.2005.

- 193.** US Patent № 5049322 1991. Process for the preparation of dispersible colloidal systems of a substance in the form of nanocapsules / Devissaguet J.P., Fessi H., Puisieux, F. – 17.09.1991.
- 194.** US Patent № 6,395,304 B2 Apparatus and method for preparing microparticles / Lyons, S.L., Wright S. G. – 28.05.2002.
- 195.** Vauthier, C. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles / C. Vauthier, K. Bouchema // *Pharmaceutical Research*. – 2008. – Vol. 26. – P. 1025–1058.
- 196.** Venkatesan, P. Microencapsulation : A vital technique in novel drug delivery system / P. Venkatesan, R. Manavalan, K. Valliappan // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2009. – Vol. 1. – P. 26–35.
- 197.** Volodkin, D.V. Matrix Polyelectrolyte Microcapsules: New System for Macromolecule Encapsulation / D.V. Volodkin, A.I.Petrov, M.Prevot, G.B. Sukhorukov // *Langmur*. – 2004. Vol. 20(8). – P. 3398–3406.
- 198.** Wischke, C. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles / C. Wischke, S. Schwendeman // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2008. – Vol. 364. – P. 298-327.
- 199.** Yan, Sh. Layer-by-layer assembly of poly(L-glutamic acid)/chitosan microcapsules for high loading and sustained release of 5-fluorouracil / Sh. Yan, J. Zhu, Zh. Wang, J. Yin, Y. Zheng, X.Chen // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2011. – Vol. 78. – P. 336 – 345.
- 200.** Yang, O. Effect of solvent composition during preparation on the characteristics of enoxacin microparticles / O. Yang, R.Renee, Owusu–Ababio G. // *J. Pharm. and Pharmacol.*– 1999. – Vol.51. – P.659–665
- 201.** Yang, Y. Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method / Y. Yang, T. Chung, N. Ping Ng // *Biomaterials*. – 2001. – Vol. 22. – P. 231-241.

- 202.** Yazici, E. Phenytoin sodium microcapsules: Bench scale formulation, process characterization and release kinetics / E. Yazici, L. Oner // Pharm. Dev. and Technol. – 1996. –Vol.1. – P.175–183.
- 203.** Zhou D. The anticancer effect of phospho-tyrosol-indomethacin (MPI-621), a novel phosphoderivative of indomethacin: *in vitro and in vivo* studies/ D. Zhou, I.Papayannis, G.G. Mackenzie, N. Alston, N.Ouyang, L. Huang, T. Nie, C. C. Wong, B. Rigas//Carcinogenesis.– 2013.–V. 34(4).– P. 943–951.

Приложение 1

Рисунки 1 – 20

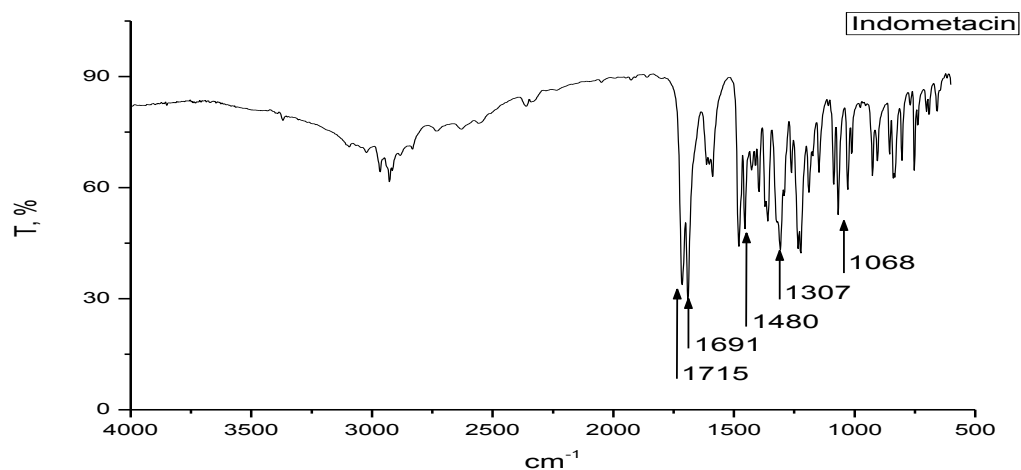


Рисунок 1 - ИК-спектр индометацина. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

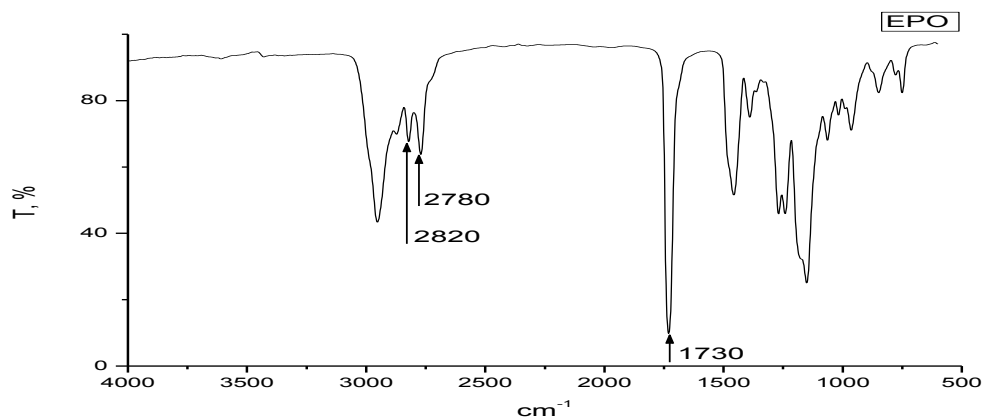


Рисунок 2 – ИК-спектр Eudragit® EPO. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

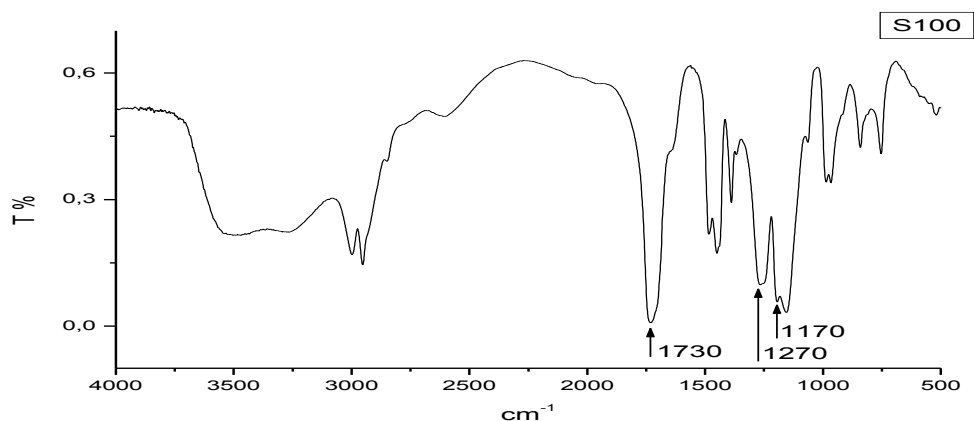


Рисунок 3 - ИК-спектр Eudragit® S100. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

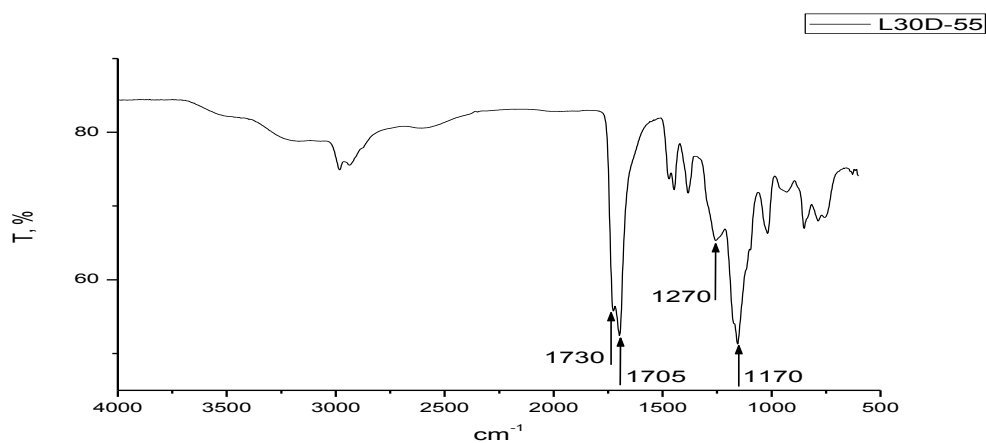


Рисунок 4 - ИК-спектр Eudragit® L30D-55. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

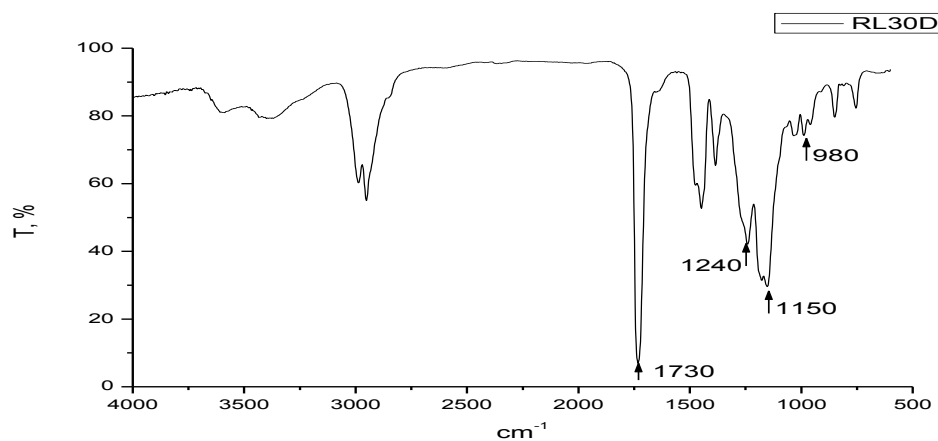


Рисунок 5 - ИК-спектр пленки RL30D. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

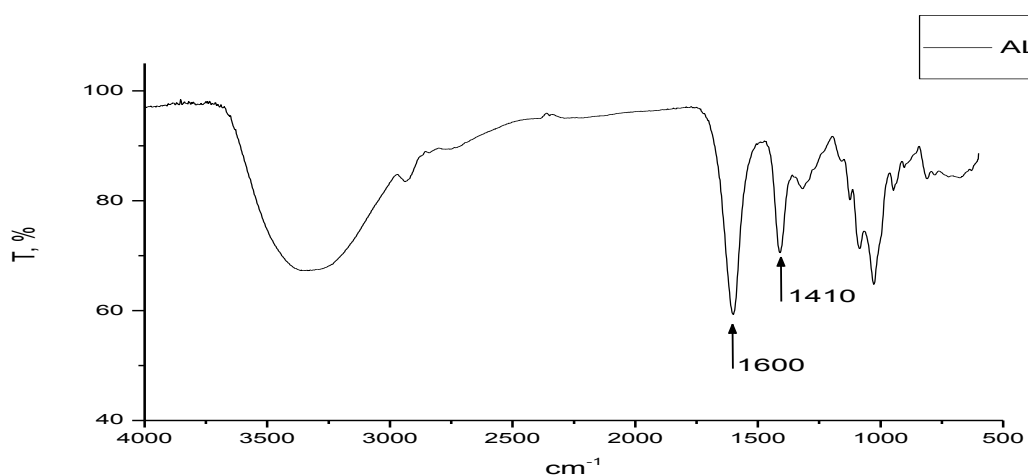


Рисунок 6 - ИК-спектр альгината натрия. По оси абсцисс – волновое число, по оси ординат – пропускание.

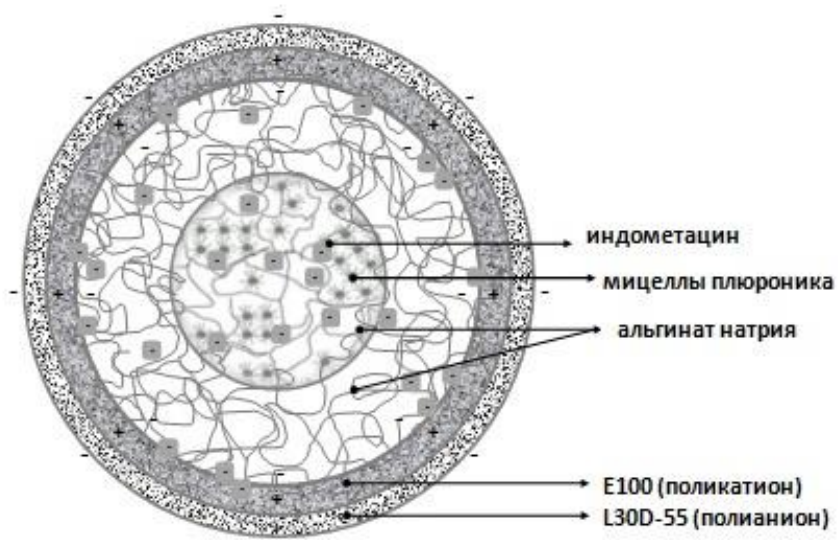


Рисунок 7 - Схематичное изображение микрокапсулы типа С [89, 92].

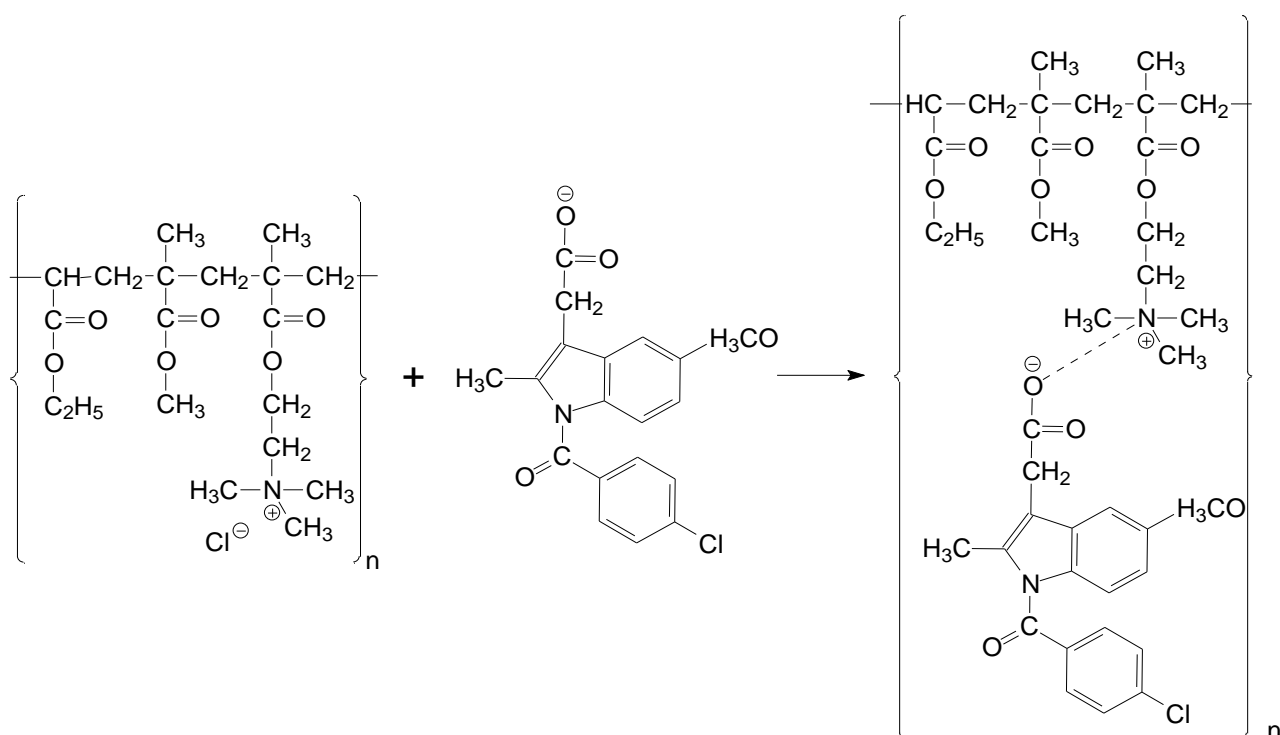


Рисунок 8 - Схема получения полимер-лекарственного комплекса на основе сополимера Eudragit® RL30D и индометацина.

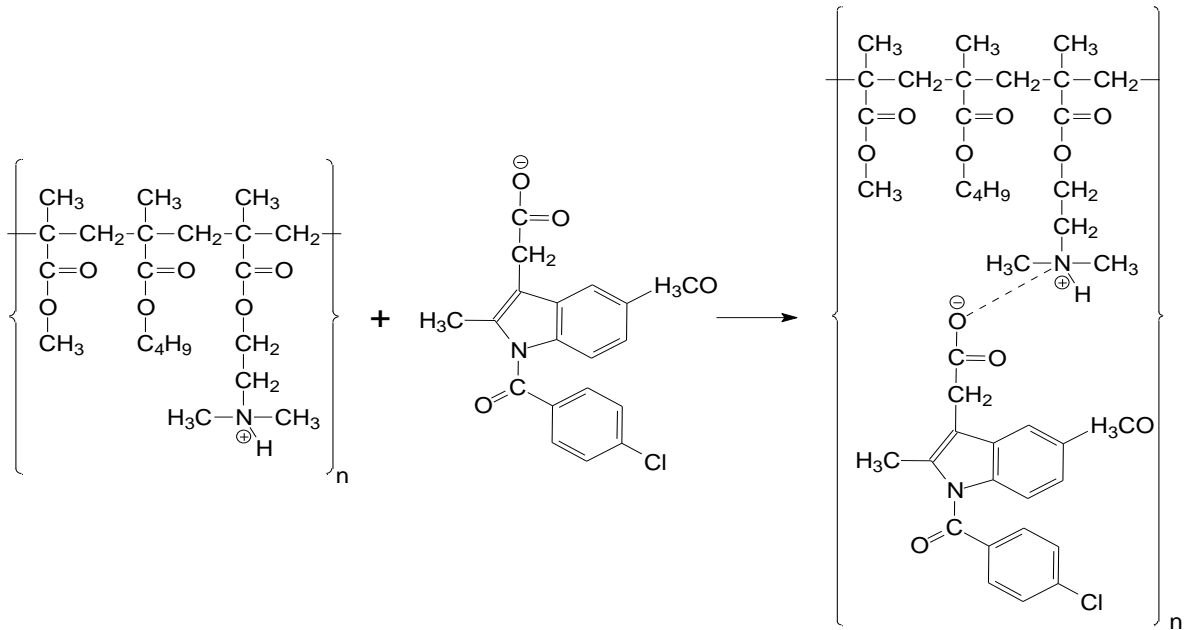


Рисунок 9 - Схема получения полимер-лекарственного комплекса на основе сополимера Eudragit® EPO и индометацина.

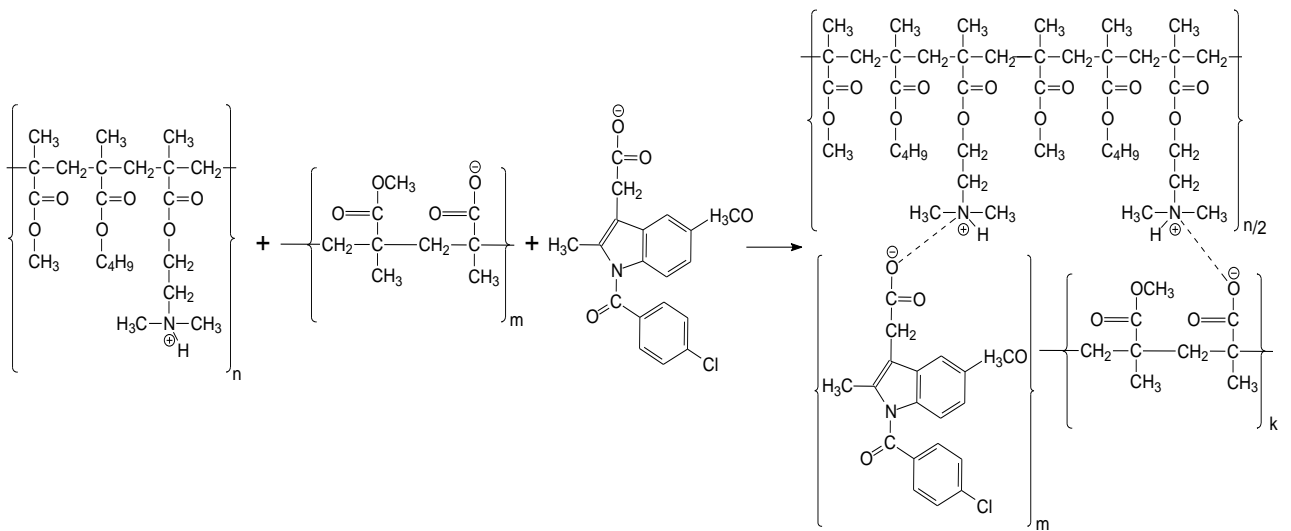


Рисунок 10 - Схема получения ИПЭЛК на основе сополимеров Eudragit® EPO, Eudragit® S100 и индометацина.

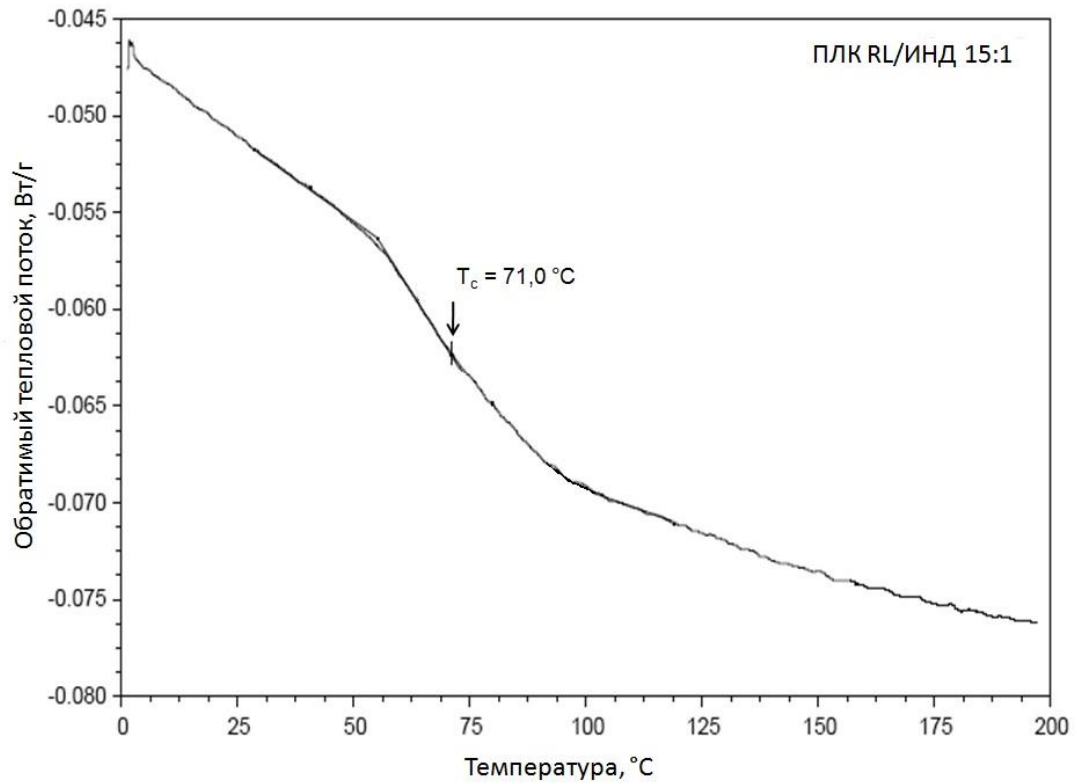


Рисунок 11 – ДСК термограмма ПЛК RL/ИНД.

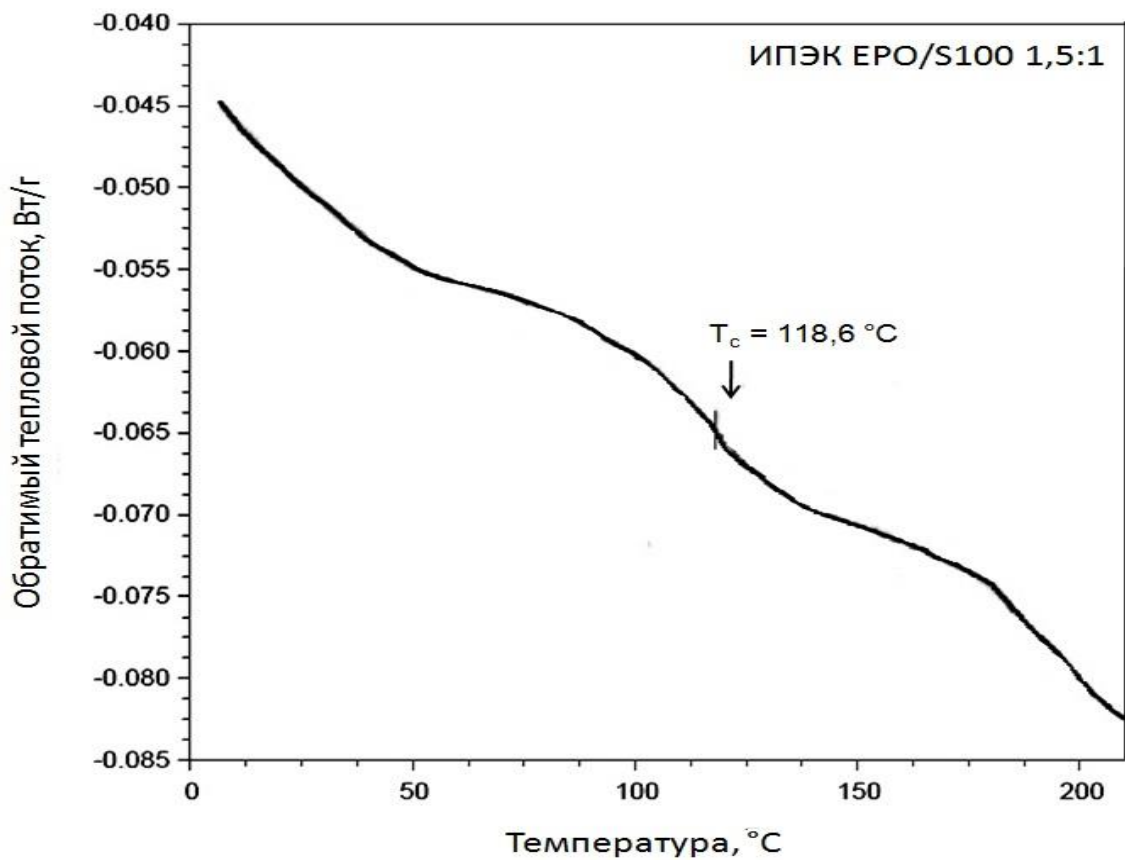


Рисунок 12 - ДСК-термограмма ИПЭК ЕРО/S100 1,5:1.

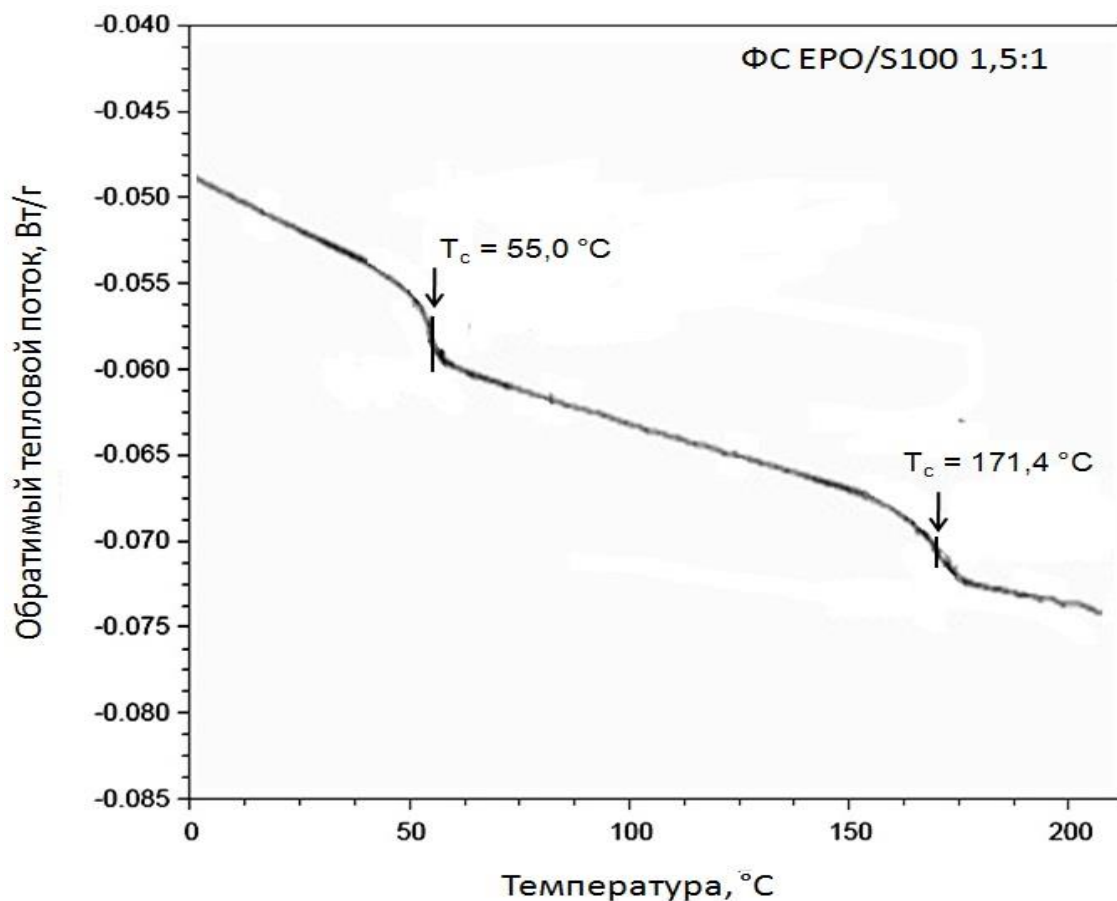


Рисунок 13 - ДСК-термограмма ФС ЕРО/S100 1,5:1.

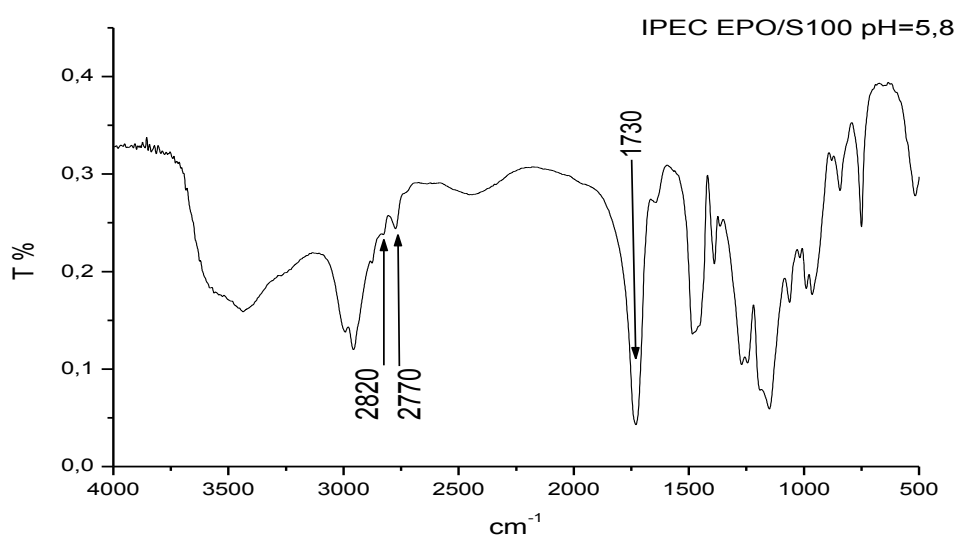
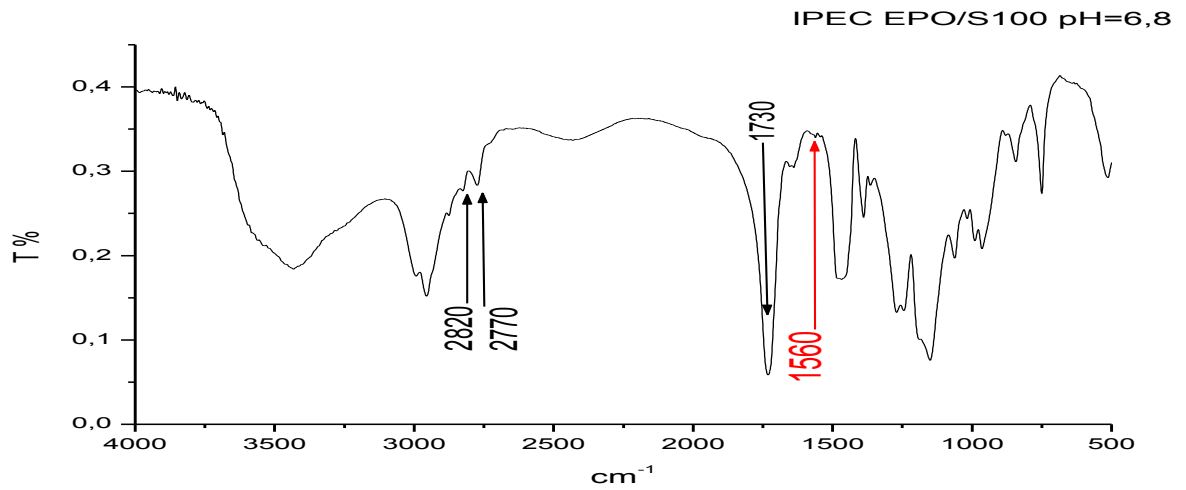
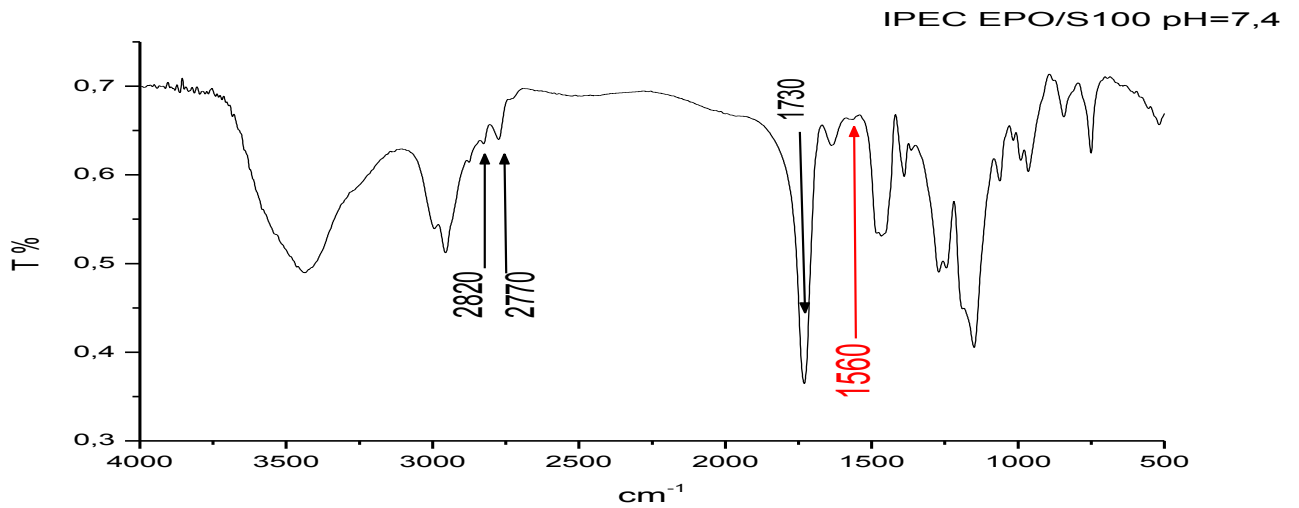


Рисунок 14 - ИК-спектр таблетированной матрицы ЕРО/S100 после кислой среды и среды фосфатного буфера с рН=5,8 (на полученном спектре пропадает полоса 1560 cm^{-1}).



a)



б)

Рисунок 15 - ИК-спектры таблетированной матрицы ИПЭК ЕРО/S100 после фосфатных буферных растворов с рН 6,8 (а) и 7,4 (б) (по мере увеличения рН среды начинает проявляться полоса при 1560 см⁻¹).

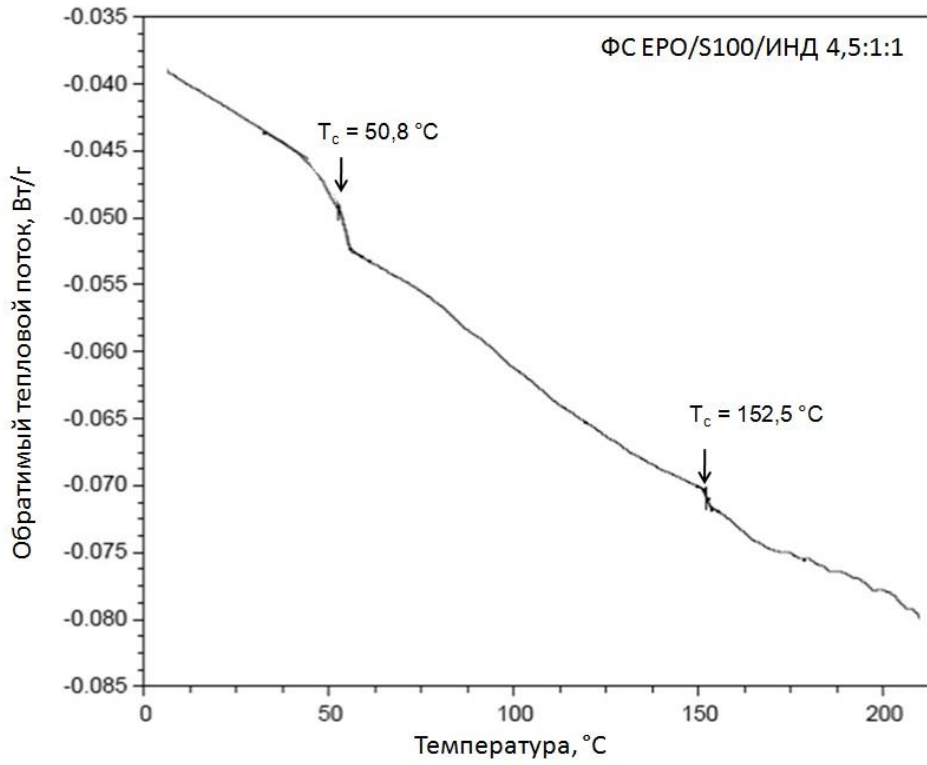


Рисунок 16 - ДСК-термограмма ФС ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1

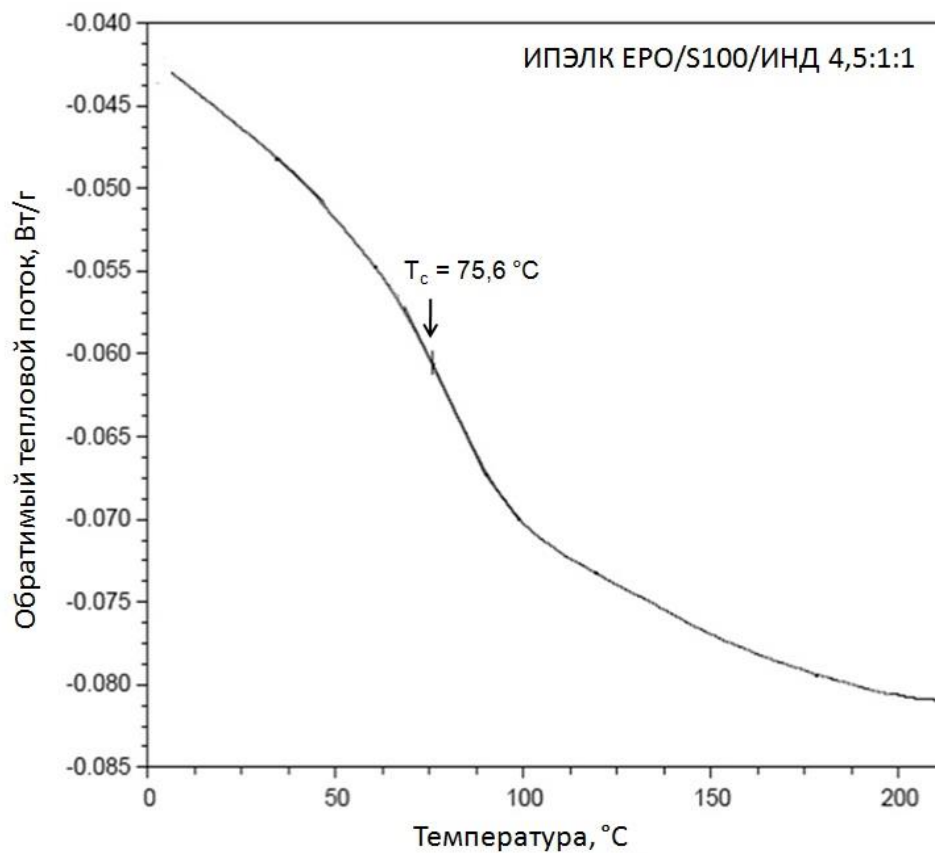


Рисунок 17- ДСК-термограмма ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1.

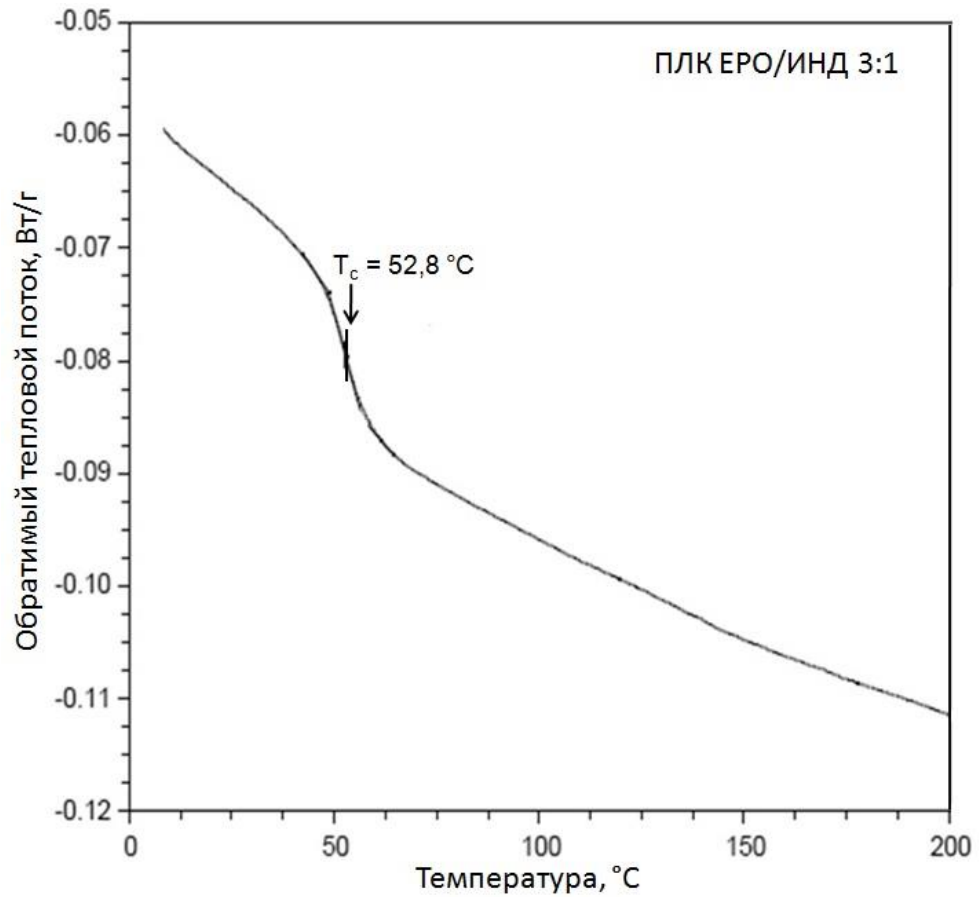


Рисунок 18 - ДСК-термограмма ПЛК ЕРО/ИНД 3:1.

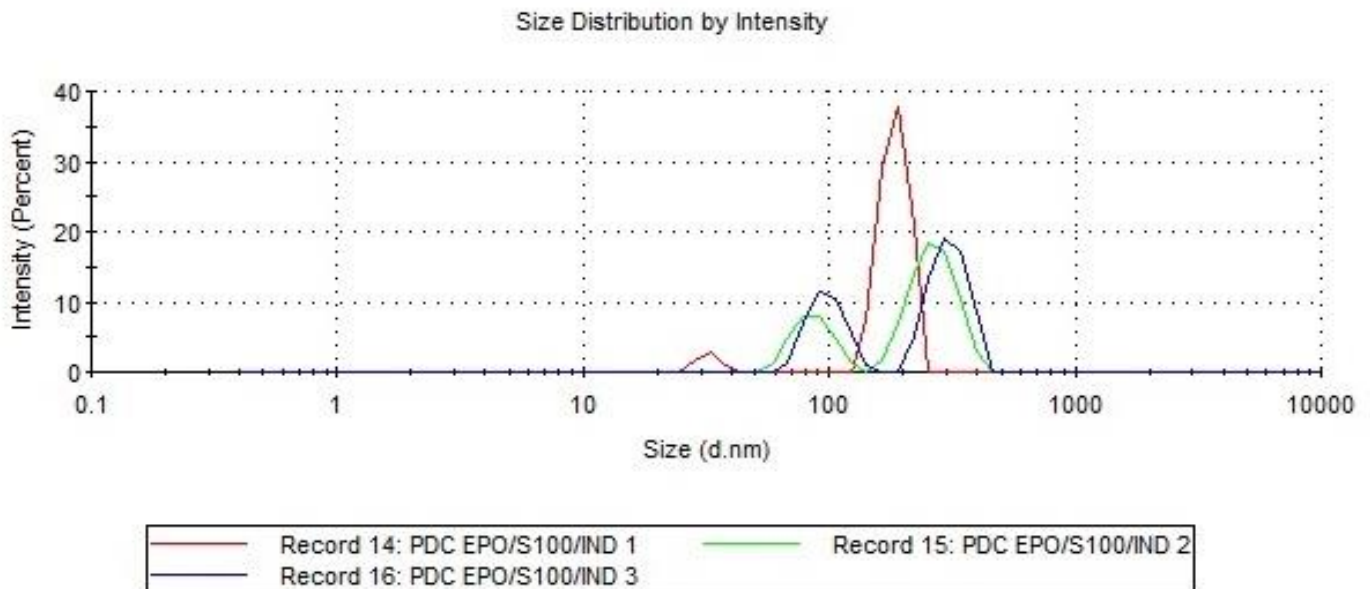


Рисунок 19 - Распределение частиц ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1 по размерам. По оси абсцисс – размер (нм), по оси ординат – интенсивность (%).

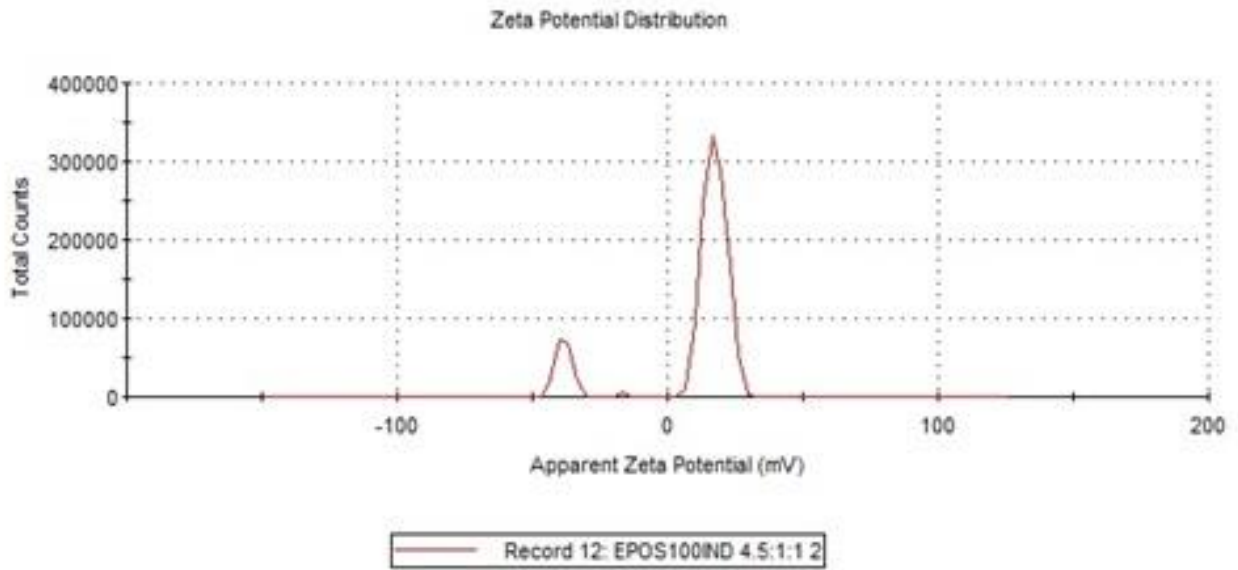


Рисунок 20 - Распределение поверхностного заряда частиц ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1. По оси абсцисс – поверхностный заряд (мВ), по оси ординат – количество частиц.

Приложение 2

Таблицы 1-7

Таблица 1 - Состав реакционной среды при получении полимер-лекарственного комплекса, образованного ИНД и Eudragit® RL

№ п/п	Z = [RL]/[ИНД], (моль/моль)	M (RL), г	M (ИНД), г
1	18:1	0,4802	0,0895
2	17:1	0,4536	0,0895
3	16:1	0,4269	0,0895
4	15:1	0,4002	0,0895
5	14:1	0,3735	0,0895
6	13:1	0,3468	0,0895
7	12:1	0,3202	0,0895
8	11:1	0,2935	0,0895
9	10:1	0,2668	0,0895
10	9:1	0,2401	0,0895
11	8:1	0,2134	0,0895
12	7:1	0,1868	0,0895
13	6:1	0,1601	0,0895
14	5:1	0,1334	0,0895

Таблица 2 - Соотношение компонентов в реакционной смеси при образовании ИПЭК, образованного ЕРО и S100.

№ п/п	Z= [ЕРО]/[S100], (моль/моль)	Навеска ЕРО, г	Навеска S100, г
1	5:1	0,1411	0,0189
2	4:1	0,1371	0,0229
3	3:1	0,1308	0,0292
4	2:1	0,1199	0,0401
5	1,5:1	0,1106	0,0494
6	1:1	0,0959	0,0641

№ п/п	Z = [ЕРО]/[S100], (моль/моль)	Навеска ЕРО, г	Навеска S100, г
7	1:1,5	0,0798	0,0802
8	1:2	0,0684	0,0916
9	1:3	0,0558	0,1068
10	1:4	0,0435	0,1165
11	1:5	0,0368	0,1232

Таблица 3 - Состав реакционной среды при получении ПЛК, образованного ИНД и ЕРО.

№ п/п	Z = [ЕРО]/[ИНД], (моль/моль)	Навеска ЕРО, г	Навеска ИНД, г
1	5:1	0,3475	0,0895
2	4:1	0,2780	0,0895
3	3:1	0,2085	0,0895
4	2:1	0,1390	0,0895
5	1,5:1	0,1043	0,0895
6	1:1	0,0695	0,0895
7	1:2	0,0348	0,0895

Таблица 4 - Состав реакционной среды при получении ИПЭЛК, образованного ИНД и ЕРО в присутствии S100.

№ п/п	Z = [ЕРО]/[S100]/[ИНД], (моль/моль/моль)	Навеска ЕРО, г	Навеска S100, г	Навеска ИНД, г
1	6,5:1:1	0,4518	0,0465	0,0895
2	5,5:1:1	0,3823	0,0465	0,0895
3	4,5:1:1	0,3128	0,0465	0,0895
4	3,5:1:1	0,2433	0,0465	0,0895
5	2,5:1:1	0,1738	0,0465	0,0895

Таблица 5 - Характер общего действия при введении образцов ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1.

№ п/п	Наименование образца	Характер общего действия при введении мышам дозы 1000 мг/кг	Характер общего действия при введении мышам дозы 2000 мг/кг	Характер общего действия при введении мышам дозы 3000 мг/кг
1	ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы

Таблица 6 - Исследовательская активность белых мышей в «открытом» поле после введения лабораторных образцов в течение 14 дней.

№ п/п	Состав комплексов и размер	Доза мг/кг	Исследовательская активность (число заглядываний в отверстия за 3 мин) М+m	Р
3	ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	2000 мг/кг	56 + 14	>0,05
4	Контроль	-	48 +11	-

Таблица 7 - Двигательная активность белых мышей в «открытом» поле после введения лабораторных образцов в течение 14 дней.

№ п/п	Состав комплексов и размер	Доза мг/кг	Двигательная активность (число пересеченных линий за 3 мин) М+m	Р
3	ИПЭЛК ЕРО/S100/ИНД 4,5:1:1	2000 мг/кг	46 +17	>0,05
4	Контроль	-	58 +18	-

Приложение 3

Локальный Этический Комитет
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
профессионального образования «Казанский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения и социального развития
Российской Федерации

420012, Казань ул. Бутлерова, 49

тел/факс (843)236-45-30

Выписка из протокола заседания № 5

от 28 мая 2012 г.

Заседание состоялось по адресу: Казань, ул. Бутлерова, 49,

Казанский государственный медицинский университет в 15.00 часов.

На заседании присутствовали: Гурылева М.Э – председатель, Нежметдинова Ф.Т., Садыкова Д.И., Щербакова А.Г., Заббарова А.Т., Вахитов Х.М., Рашитов Л.Ф., Хамитова Г.М., Стажеры – Нурмеев И.Н., Ключаров И.В.
 Приглашенные – Смирнова О.М., Минигулов И.Х.
 Секретарь - Шарафутдинова Л.А.

Слушали:

Диссертационная работа «Создание и исследование инкапсулируемых систем доставки на основе полиметакрилатных комплексов» исследователя кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии (технология получения лекарств, 14.04.01) **Ситенкова Александра Юрьевича**, под руководством доцента, к.фарм.н. Мустафина Р.И. и профессора, д.м.н. Семиной И.И.

Представленные документы:

1. Протокол исследования.
2. Описание методов исследования и краткая аннотация на используемые лекарственные препараты
3. Профессиональные автобиографии исследователя (Ситенкова А.Ю.) и его научных руководителей Семиной И.И. и Мустафина Р.И.
4. Решение ЦПК о планировании работы.

Решение:

Одобрить проведение запланированной диссертационной работы.

Председатель

Секретарь



Гурылева М.Э.

Шарафутдинова Л.А.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального
директора по развитию

АО «Татхимфармпрепараты»

А.Н. Анисимов

«19» ноября 2018 г.

420091, Казань

ул. Беломорская, д. 260



А К Т


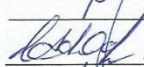
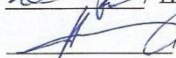
Наработки экспериментальной партии

«Интерполиэлектrolит-лекарственного комплекса на основе химически
комплементарных поли(мет)акрилатов с индометацином»

для доклинического изучения

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: Севодина Виталия Александровича – зам. генерального директора по качеству, Насибуллина Шамиля Флюоровича – зам. начальника исследовательского отдела, Авдониной Нины Николаевны — ведущего инженера-технолога исследовательского отдела, составили настоящий акт в том, что в исследовательском отделе АО «Татхимфармпрепараты» наработано 5 кг экспериментальной партии образца на основании «Лабораторного регламента на производство интерполиэлектrolит-лекарственного комплекса на основе химически комплементарных поли(мет)акрилатов с индометацином». Полученный образец соответствует требованиям, заложенным в проект Фармакопейной статьи предприятия (ООО «ИнтерЛЕК» при ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России) на «Интерполиэлектrolит-лекарственный комплекс на основе химически комплементарных поли(мет)акрилатов с индометацином». Авторы разработки: научный руководитель ООО «ИнтерЛЕК», директор Института фармации ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, канд.фарм.наук, доцент Мустафин Руслан Ибрагимович и ассистент Института фармации ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России Ситенков Александр Юрьевич.

Подписи членов комиссии:

 /В.А. Севодин/
 /Ш.Ф. Насибуллин /
 Н.Н. Авдонина/

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего образования
«Казанский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49
Тел.: (843) 236-06-52, факс: 236-03-93
E-mail: rector@kazangmu.ru



Россия Федерациясе саламатлек
саклау министрлыгынын
«Казан дәүләт медицина университеты»
югары белем биру федераль дәүләт
бюджет мәгариф учреждениеесе

420012, Казан шәһәре, Бутлеров ур., 49
Тел.: (843) 236-06-52, факс: 236-03-93
E-mail: rector@kazangmu.ru

ОКПО 01963640, ОГРН 1021602848189, ИНН / КПП 1655007760 / 165501001

№ _____ 201 __ г.
На № _____ от _____ 201 __ г.
Г _____ Г _____

УТВЕРЖДАЮ:
Ректор ФГБОУ ВО Казанский ГМУ
Минздрава России,
профессор А.С. Созинов
_____ 2018 г.

АКТ

внедрения в учебный процесс материалов кандидатской диссертации

Ситенкова А.Ю.

Диссертационная работа «Создание и исследование микро- и наноразмерных систем доставки на основе полиметакрилатных комплексов» Ситенкова А.Ю. посвящена решению одной из актуальных задач фармацевтической технологии – получение микро- и наноразмерных лекарственных форм.

Полученные в диссертационной работе результаты включены в учебный процесс Казанского государственного медицинского университета: образовательные программы для аспирантов «Полимерные системы как средства пероральной доставки лекарственных веществ» и «Системы адресной доставки лекарственных веществ», образовательная программа для студентов 5 курса, обучающихся по специальности «Фармация», «Системы адресной доставки лекарственных веществ».

В целом, используемые в учебном процессе данные, приведенные в кандидатской диссертации Ситенкова А.Ю., позволяют расширить представления студентов о современных достижениях фармацевтической науки.

Проректор по образовательной деятельности
Казанского государственного медицинского
университета, профессор

Л.М. Мухарьмова

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2467766

**ПЕРОРАЛЬНАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ОБЛАСТЬ КИШЕЧНИКА**

Патентообладатель(и): *Общество с ограниченной ответственностью "ИнтерЛЕК" (RU), Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (ГОУ ВПО Казанский ГМУ Минздрава России) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2011118851

Приоритет изобретения **10 мая 2011 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **27 ноября 2012 г.**

Срок действия патента истекает **10 мая 2031 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) RU⁽¹¹⁾ 2 467 766⁽¹³⁾ C1

(51) МПК
A61K 47/30 (2006.01)
A61K 31/196 (2006.01)
A61K 31/405 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011118851/15, 10.05.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
10.05.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 10.05.2011

(45) Опубликовано: 27.11.2012 Бюл. № 33

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: МУСТАФИН Р.И. Изучение

диффузионно-транспортных свойств
полнокомплексных матричных систем,
образованных Eudragit® EPO и Carbomer 940
// Химико-фармацевтический журнал, 2010,
т. 44, №3, с.38-42. PRANSHU TANGRI,
«Recent advances in oral drug delivery systems»
[онлайн]. US 20080118570 A1, 22.05.2008.
МУСТАФИН Р.И. Получение и (см. прот.)

Адрес для переписки:

420107, г.Казань, ул. Петербургская, 50,
офис 210, Физкал ООО "Юридическая фирма
Городиский и Партнеры" в г. Казань

(72) Автор(ы):

Мустафин Руслан Ибрагимович (RU),
Семюна Ирина Ивановна (RU),
Буховец Александра Викторовна (RU),
Гарипова Венера Расимовна (RU),
Ситенков Александр Юрьевич (RU),
Кабанова Татьяна Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной
ответственностью "ИнтерЛЕК" (RU),
Государственное образовательное
учреждение высшего профессионального
образования "Казанский государственный
медицинский университет" Министерства
здравоохранения и социального развития
Российской Федерации (ГОУ ВПО
Казанский ГМУ Минздрава России) (RU)

RU 2 4 6 7 7 6 6 C 1

RU 2 4 6 7 7 6 6 C 1

(54) ПЕРОРАЛЬНАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ОБЛАСТЬ
КИШЕЧНИКА

(57) Реферат:

Изобретение относится к системе
пероральной доставки лекарственных веществ
с контролируемым высвобождением в область
кишечника, которая включает в себя
терапевтически активный компонент,
выбранный из диклофенака натрия,
окспренолола, метопролола, нифедипина,
индометазина, ибупрофена, изосорбида,
теофиллина, и фармацевтически приемлемый
носитель. В качестве фармацевтически
приемлемого носителя система содержит

полимерный носитель на основе
интерполиэлектролитного комплекса,
полученного при взаимодействии редкооситой
полиакриловой кислоты (полианиона) с
сополимером диметиламиноэтилметакрилата и
нейтральных эфиров метакриловой кислоты
(поликатиона). Технический результат
изобретения заключается в контролируемом
высвобождении на протяжении всего
кишечника, снижении дозы и
продолжительном действии активного
компонента. 3 з.п. ф-лы, 4 ил., 3 табл., 5 пр.

(56) (продолжение):

физико-химическая оценка нового носителя на основе интерполиэлектролитного комплекса,
образованного Eudragit® EPO и Carbomer 940 // Химико-фармацевтический журнал, 2010, т.44, №5,
с.39-41.