

На правах рукописи



Нарышкин Савва

**Разработка лекарственных форм метронидазола
с применением твёрдых дисперсий**

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

Доктор фармацевтических наук, профессор **Краснюк Иван Иванович (мл.)**

Официальные оппоненты:

Алексеев Константин Викторович, доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», лаборатория готовых лекарственных форм, главный научный сотрудник

Суслина Светлана Николаевна, доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, кафедра общей фармацевтической и биомедицинской технологии, заведующий кафедрой

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «25» октября 2023 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский б-р, д. 37/1 и на сайте организации <http://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.002.02

доктор фармацевтических наук, профессор  **Дёмина Наталья Борисовна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

На терапевтический эффект активной фармацевтической субстанции (АФС) влияют технология и вид лекарственной формы (ЛФ). Разработка новых лекарственных препаратов (ЛП) с оптимальными свойствами на основе давно известных АФС – направление весьма перспективное. Комбинируя ассортимент вспомогательных веществ (ВВ) и технологий можно создавать ЛП с оптимальной биологической доступностью (БД) при сниженной дозе АФС. В случае противомикробного и противопротозойного метронидазола актуально повышение растворимости в воде и разработка быстрорастворимых ЛП. Вследствие широкого антимикробного спектра метронидазол десятилетия активно применяется в стоматологии и дерматологии, при терапии: мочеполовой системы и ЖКТ. На фарм. рынке отсутствуют перспективные шипучие ЛФ данной АФС. Данные ЛФ стабильны при хранении, позволяют комфортно принять АФС в форме раствора. Что стимулирует абсорбцию и нивелирует раздражающее действие. Низкая растворимость метронидазола (1:100 в воде) исключает введение в быстрорастворимые ЛФ. Метод «твердых дисперсий» (ТД) – передовой способ, решения проблемы низкой растворимости. ТД – твердые растворы или суспензии) АФС в носителе (включая их комплексы). Роль носителя часто играют полимеры. Систематический обзор и научно-патентной литературы не выявил сведений о какой-либо разработке на основе ТД метронидазола быстрорастворимых ЛФ антимикробного действия. Учитывая вышесказанное, разработка состава и технологии быстрорастворимых ЛФ на основе ТД метронидазола – актуальная проблема современной фармацевтической науки.

Степень разработанности темы исследования

Имеются разрозненные отечественные и зарубежные публикации, с описанием введения метронидазола в ТД с некими носителями, однако не

решенной остаётся проблема введения этих ТД именно в «шипучие» ЛФ и разработки оптимальной технологии быстрорастворимого метронидазола.

Цель исследования

Теоретически обосновать и экспериментально разработать состав и технологию получения быстрорастворимых ЛФ метронидазола, содержащих его ТД, для приготовления растворов для внутреннего и местного применения.

Задачи исследования

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи

1. Осуществить АФС-скрининг для последующего введения в виде ТД в быстрорастворимые ЛФ по критериям: низкая растворимость в воде; применение АФС в составе таблеток или гранул; отсутствие на фарм. рынке для данного АФС таковых ЛФ в быстрорастворимом виде.
2. Осуществить скрининг носителей оптимальных для введения метронидазола в ТД.
3. Обосновать научно и разработать экспериментально биофармацевтически оптимальную технологию введения метронидазола в ТД, применяемых для дальнейшего введения в шипучие ЛФ.
4. Оценить возможные факторы способствующие оптимизации высвобождения метронидазола из разработанных ТД.
5. Обосновать состав и предложить технологию быстрорастворимых ЛФ с применением ТД метронидазол-носитель.
6. Осуществить комплекс исследований по стандартизации разработанных шипучих ЛФ.

Научная новизна

Впервые проведено научное обоснование с экспериментальной разработкой оптимальных с точки зрения технологии и биофармации состава и технологии быстрорастворимых твердых (шипучих) ЛФ (гранул и таблеток) с введением в их состав ТД метронидазол-носитель. Осуществлён и описан комплекс фармако-технологических исследований по стандартизации разработанных шипучих ЛФ.

По результатам исследования подана заявка № 2021129748/04(063099) на изобретение РФ «Способ получения быстрорастворимых лекарственных форм метронидазола (варианты)».

Теоретическая и практическая значимость работы

Предложены оптимальные (для улучшения растворения АФС в воде) условия введения метронидазола в ТД. Экспериментально доказана и обоснована возможность введения ТД метронидазол-носитель в такие быстрорастворимые ЛФ, как: «шипучие» таблетки и гранулы для быстрого (требующего менее 5 мин) приготовления растворов с полностью растворённой (в 0,20 л воды) дозой 0,25-0,50 г метронидазола для внутреннего приема; а также для местного применения с концентрацией 6,25 мг/мл, что соответствует растворению 5 доз гранул или таблеток в 0,20 л воды. Разработанная наиболее рациональная технологическая схема инновационных быстрорастворимых ЛФ с ТД метронидазол-носитель основанная на процессах отдельного влажного гранулирования одного из ингредиентов «шипучей» системы раствором компонентов ТД – успешная реализация научно-практического, передового направления – «твёрдые дисперсии в фармации и медицине».

Методология и методы исследования

Методологическое основание исследования представляют труды отечественных и зарубежных исследователей по реализации вышеуказанного направления: Sekiguchi и Obi, И.И. Краснюк, И.И. Краснюк (мл.), а также в области разработки твёрдых шипучих ЛФ: А.М. Шевченко, М.В. Леоновой и Т. Хесса и Л.И. Тенцовой, возглавившей в России направление биофармации. Проведены: информационно-аналитический и патентный поиск, библиографический анализ, а также применены фармакопейные методы анализа: установление подлинности, УФ-спектрофотометрия (УФ-СФМ), рентгеновская дифрактометрия, оптическая микрориспаллоскопия, потенциометрия, стабильности оценка, исследования в области микробиологии, статистическая оценка, оценка характеристик шипучих ЛФ технологического плана.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Результаты АФС-скрининга и носителей с целью введения их в виде ТД в быстрорастворимые ЛФ.
2. Результаты оценки влияния получения ТД на динамику высвобождения АФС, комплекс предположительных факторов, влияющих на данный процесс.
3. Разработанные технологии и составы быстрорастворимых ЛФ, содержащих ТД метронидазол-носитель.
4. Результаты исследований, направленных на оценку качества разработанных ЛФ и их стабильности при хранении.
5. Сформулированные технологические схемы разработанных ЛФ.

Степень достоверности и апробация результатов

При проведении исследований экспериментального плана задействовали ряд современных методов физико-химического исследования и специализированное поверенное оборудование. Результаты, полученные независимыми различными методами, согласуются между собой полностью, дополняя друг друга взаимно, обосновывая достоверность выносимых на защиту выводов и положений. Материалы диссертации были представлены на: Science XXI-century-2020, VI Международная научно-практическая конференция (Чехия – Карловы Вары, Россия – Москва, 2020); XXXVII-Студенческая международная научно-практическая конференция «Естественные и медицинские науки. Студенческий научный форум» (Москва, 2021); XXXV-XXXVI-Международная научно-практическая конференция «Естественные науки и медицина: теория и практика» (Новосибирск, 2021); XLV-Международная научно-практическая конференция «Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования» (Москва, 2021). Апробация диссертации проведена «10» июня 2023 г. (Протокол № 6) на заседании кафедр: аналитической, физической и коллоидной химии; фармацевтической технологии; фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад автора

Автор лично провёл анализ источников научно-патентной литературы по теме реализуемого исследования; выполнил поиск патентный; сформулировал цель и задачи научной работы. Автором разработаны оптимальные для повышения растворимости АФС условия для введения метронидазола и носителя в ТД. Разработаны шипучие ЛФ с введением ТД метронидазол-носитель. Предложены составы и сформулированы соответствующие технологические схемы. Осуществлён комплекс работ по стандартизации разработанных ЛФ. Проведены обобщение и комплексный анализ полученных экспериментальных данных и их стат-обработка. Результаты научно-исследовательской работы изложены в диссертации, автореферате и публикациях в рецензируемых изданиях. Автором подана заявка № 2021129748/04(063099) на изобретение РФ.

Внедрение результатов в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс на кафедрах: «аналитической, физической и коллоидной химии» и «фармацевтической технологии» Сеченовского Университета (Акты от 20.04.2023 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, пунктам 2, 3 и 4.

Связь темы исследования с проблемным планом фармацевтических наук

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

Публикации

По результатам исследования автором опубликованы 9 работ, в том числе 2 статьи в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты, 2 статьи в научных изданиях, индексируемых в Scopus, 1 статья в иных научных изданиях, 4 тезиса в материалах конференций. Подана 1 заявка на изобретение РФ.

Объём и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 118 страницах компьютерного текста. Включает: введение, обзор литературы (глава 1), экспериментальную часть (главы 2-4), общие выводы, список сокращений и условных обозначений, список литературы из 150 источников (92 из которых – зарубежные) и 4 приложения. В качестве иллюстраций диссертация содержит 15 рисунков и 13 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В ходе скрининга из числа АФС, составляющих группу имидазолы, в качестве объекта изучения был выбран метронидазол (Хубэй Хунюань Фармасьютикал Текнолоджи Ко., Лтд., Китай.). В качестве носителей ТД использованы ПЭГ с молекулярными массами 1500, 2000 и 3000 (фирма MERCK, Германия) и ПВП с молекулярной массой 10000 (фирма Sigma-Aldrich, США). Как ВВ применяли: этанол 95%, винную, яблочную и лимонную кислоты, карбонат и гидрокарбонат натрия, бензоат натрия. Образцы ТД готовили методом «удаления растворителя». Рассчитанные количества АФС и ПВП или ПЭГ растворяли в общем растворителе – этаноле 95%, который в дальнейшем выпаривали под вакуумом (вакуумный мембранный насос фирмы KNF Neuberger GmbH, Германия) на водяной бане (магнитная мешалка RCT basic фирмы ИКА, Германия) при температуре $75 \pm 2^\circ\text{C}$. Смеси АФС с полимерами готовили совместным измельчением компонентов в аналитической мельнице (Analytical mill) ИКА А 11basic при скорости помола 25000 оборотов в минуту.

Время измельчения – 1 сек. Полученные ТД метронидазола с ПВП внешне представляют собой белую стекловидную массу с желтоватым оттенком; ТД с ПЭГ – трудно измельчаемые, липкие, вязкие массы желтоватого цвета. Основная проблема эксперимента заключалась в невозможности использования теста «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» согласно методике ОФС 1.4.2.0014.15 (ГФ РФ). Модифицированная методика изучения растворимости и скорости растворения АФС и ТД включает использование магнитной мешалки. Навески образцов для изучения растворения брали с расчетом, чтобы образовался насыщенный раствор АФС. Температура опыта составила $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Образцы растворяли в 150 мл воды очищенной при перемешивании (скорость оборотов магнитной мешалки 200 об/мин). Для исследования кинетики растворения АФС через интервалы времени 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60 мин отбирали по 5 мл раствора с последующим восполнением среды водой очищенной до 150 мл. В случае необходимости пробу фильтровали через шприцевые насадки Minisart® (Sartorius) с размером пор 0,45 мкм; фильтрующий материал – нейлон. Концентрацию АФС в растворах определяли методом УФ-спектрофотометрии на базе кафедры аналитической, физической и коллоидной химии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), используя однолучевой сканирующий спектрофотометр UNICO 2800 (США) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 10,0 мм. Микрорентгенофотометрию проводили на цифровом микроскопе Levenhuk D50L NG (Китай). Рентгенофазовый анализ проводили на базе ФГУП Всероссийского НИИ авиационных материалов на рентгеновском дифрактометре ДРОН-4 (Россия). Получение гранулятов осуществляли на установке для грануляции BOSCH «Mucrolab» (Германия). Качество полученных быстрорастворимых ЛФ определяли на базе кафедры фармацевтической технологии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Влияние состава и технологии ТД на растворение метронидазола

В большинстве случаев установлено, что получение ТД приводит к повышению растворимости и скорости растворения метронидазола в воде по сравнению с порошком субстанции. Увеличение растворимости определяли, как отношение концентрации насыщенного раствора ТД к концентрации насыщенного раствора АФС через 60 мин (9,003 мг/мл) от момента начала растворения (Рисунок 1).

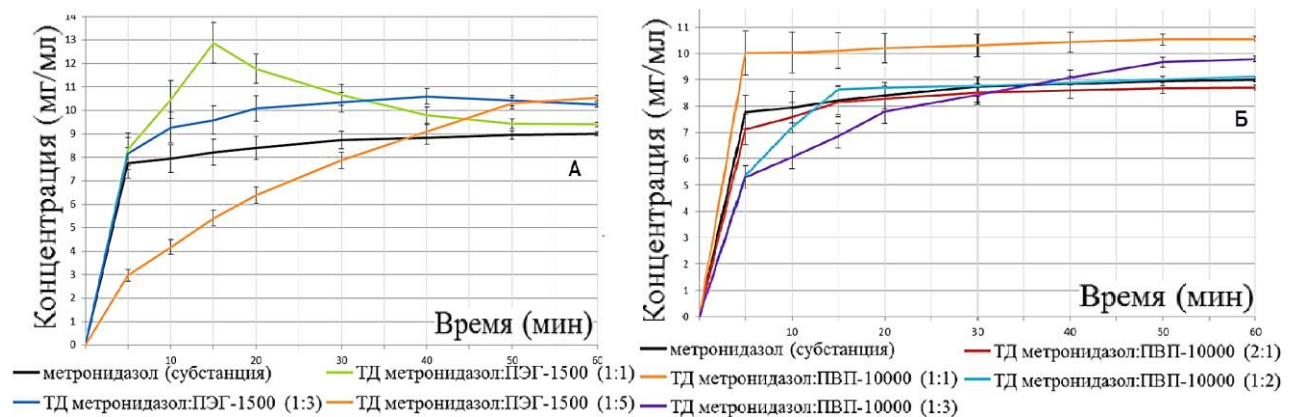


Рисунок 1 – Влияние на растворение метронидазола ТД: А – с ПЭГ; Б – с ПВП.

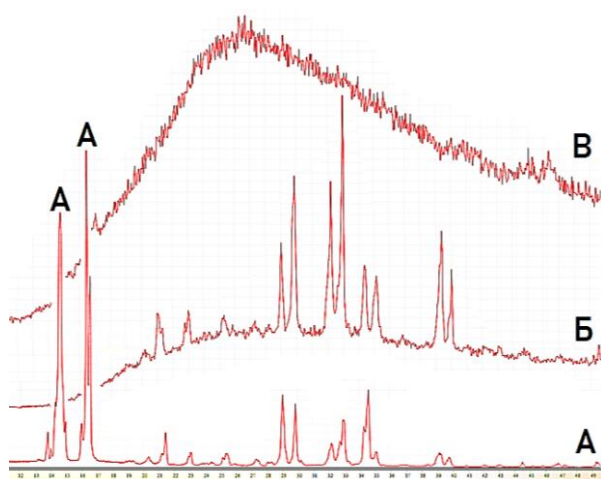
Увеличение скорости растворения АФС устанавливали, как отношение концентрации раствора ТД, к концентрации раствора порошка субстанции в соответствующий момент времени от начала растворения. Результаты эксперимента свидетельствуют о медленном растворении исходной субстанции метронидазола в воде и плавном росте концентрации до максимального значения 9,003 мг/мл к 60 мин. **Влияние природы и соотношения полимерного носителя на процесс растворения метронидазола из ТД.** Как видно из данных, представленных на Рисунке 1, наибольшее повышение растворимости и скорости растворения наблюдается в случае ТД с ПВП – к концу опыта растворимость метронидазола из ТД с данным полимером выше растворимости субстанции на 20%. При этом более значительно возрастает скорость растворения – уже в первые 5 мин от начала эксперимента концентрация АФС в растворе ТД с ПВП выше, чем у субстанции на 30% в аналогичный момент времени. В отличие от ПВП, ТД с ПЭГ на процесс растворения влияют менее

выражено. Среди ПЭГ различных молекулярных масс наибольшее увеличение скорости растворения АФС наблюдается для ТД (АФС:ПЭГ-1500) 1:1 и 1:5 по массе. В данном случае наблюдается эффект пересыщения раствора и скорость растворения повышается на 30-60%, однако далее за счёт рекристаллизации концентрация снижается до значения субстанции. Экспериментально установлено, что соотношение АФС и полимера неодинаково влияет на повышение растворимости и скорости растворения. Увеличение содержания ПВП в ТД не приводит к соответствующему повышению растворимости АФС. Соотношение АФС:ПВП 1:1 является наилучшим, повышая растворимость на 20% и стабилизируя концентрацию АФС на максимальном уровне уже в первые 5 мин. Изменение соотношения АФС:ПВП с 2:1 до 1:3 не приводит к какому либо значимому влиянию на концентрацию АФС. В данном случае концентрация АФС колеблется приблизительно в одном диапазоне. Использование других полимеров не приводило к столь выраженному повышению растворимости. Проведенные исследования позволяют предложить оптимальные состав и технологию ТД: использование в качестве полимера-носителя ПВП-1000; соотношение АФС:ПВП – 1:1 (по массе), общий растворитель – этанол 96%, получение ТД методом «удаления растворителя» при температуре $75\pm 2^\circ\text{C}$.

Изучение возможных механизмов изменения растворения из ТД

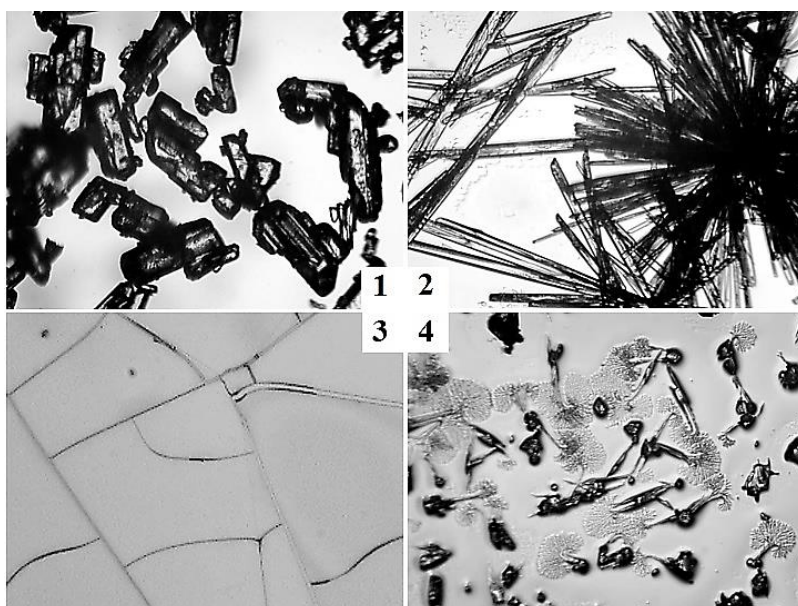
Результаты рентгено-фазового анализа. Рентгенограмма ТД с ПВП – сумма пиков компонентов. ТД – комбинированная система – раствор АФС в ПВП и кристаллы АФС в матрице ПВП (твёрдая суспензия). Несмотря на высокое (50% по массе) содержание АФС в исследуемой ТД, для него наблюдается значительное снижение интенсивности одних пиков и исчезновение ряда других. Полученные данные подтверждают предположение о частичной потере метронидазолом кристаллической структуры при получении его ТД с исследуемым полимером (Рисунок 2).

Результаты микроскопии. (Рисунок 3) Сопласуются и дополняют результаты рентгено-фазового анализа. Установлено, что субстанция



А – метронидазол; Б – полимер (ПВП-10000); В – ТД АФС:ПВП (1:1)

Рисунок 2 – Рентгенограммы строения – возможно рекристаллизованное АФС. Отмечены мелкие кристаллические частицы сходные с исходной субстанции. Присутствуют мелкие, трудно идентифицируемые объекты – или остановившиеся на начальном этапе рекристаллизации частицы АФС в вязком ПВП, или его полиморфная



1 – субстанция метронидазола; 2 – рекристаллизованная АФС; 3 – ПВП; 4 – ТД.

Рисунок 3 – Результаты микроскопии

метронидазола – продолговатые частицы (прозрачные, бесцветные) с выраженным кристаллическим строением. Метронидазол после удаления растворителя представляет иную картину – игольчатые кристаллы в звёздчатых скоплениях. ПВП – прозрачная, бесцветная, аморфная масса. ТД – гетерогенная система из нескольких фаз.

Ряд структур – частично игольчатое

строение – возможно рекристаллизованное АФС. Отмечены мелкие кристаллические частицы сходные с исходной субстанции. Присутствуют

мелкие, трудно идентифицируемые объекты – или остановившиеся на начальном

этапе рекристаллизации частицы АФС в вязком ПВП, или его полиморфная

модификации, или аморфный продукт

комплексообразования с ПВП. Учитывая, что

содержание АФС в ТД – 50%, прозрачный фон скорее

всего – твёрдый раствор АФС в ПВП. Таким образом,

ТД – сложная картина, сочетающая исходное АФС

(кристаллической и аморфной природы), ПВП, и

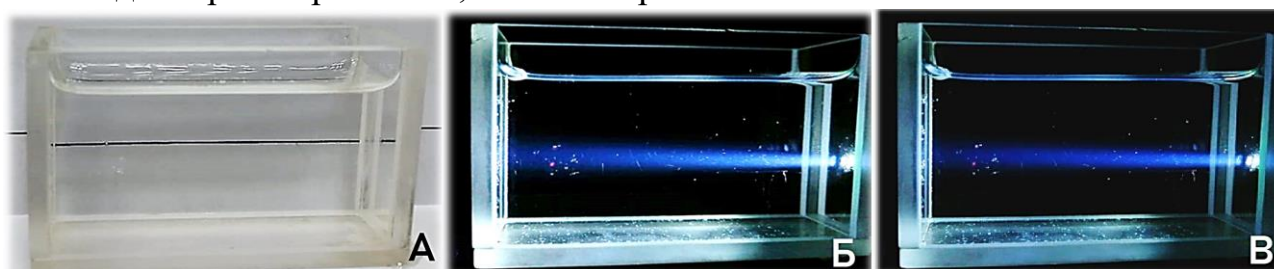
их твёрдый раствор, и, возможно, продукты комплексообразования.

Изучение рассеивания света в водных растворах метронидазола. Одна из возможных

причин повышения растворимости – переход АФС в коллоидное состояние при

и, возможно, продукты комплексообразования. *Изучение рассеивания света в водных растворах метронидазола.* Одна из возможных причин повышения растворимости – переход АФС в коллоидное состояние при

растворении его ТД. Для подтверждения этого исследовали рассеивание света в растворах: метронидазола, его ТД, ПВП и ПЭГ (Рисунок 4). После фильтрования (фильтр 0,45 мкм) все изучаемые растворы выглядели прозрачными. Опалесценция и наличие «конуса Тиндаля» в растворах ТД, подтверждают предположение о коллоидном состоянии метронидазола. В растворах ПЭГ и ПВП конуса Тиндаля не наблюдается. Таким образом, можно предположить, что одна из причин повышения растворимости метронидазола из ТД – образование коллоидных растворов АФС, стабилизированных ПВП.



А – раствор ТД; конус Тиндаля: Б – ТД АФС:ПЭГ; В – ТД АФС:ПВП.

Рисунок 4 – Оптические свойства растворов метронидазола

Разработка состава и технологии быстрорастворимых лекарственных форм, содержащих ТД метронидазола

Ключевая задача исследования – разработка технологии быстрорастворимых ЛФ метронидазола с применением его ТД. Перспективными в данном случае являются твердые ЛФ – гранулы и таблетки. Экспериментально установлено оптимальное отношение АФС:ПВП для вводимой в гранулят ТД – 1:1 (по массе). В ходе скрининга кислотного и щелочного компонентов в качестве газообразующих ВВ выбраны широко применяемые в технологии кислоты (винная, яблочная, лимонная) и основания (гидрокарбонат и карбонат натрия) (Таблица 1). Грануляты получали отдельным влажным гранулированием. Основной и кислотный компоненты составов №1-4 гранулировали отдельно. В случае основных гранулятов – нагретым спиртовым раствором метронидазола и ПВП; в случае кислотных гранулятов 1% спиртовым раствором ПВП. Применение в качестве гранулирующей жидкости (ГЖ) спиртового раствора компонентов ТД (АФС и ПВП) более предпочтительно, т.к. всецело реализует «метод удаления растворителя». В каждом случае

соотношение кислотного и основного гранулятов определялось экспериментально. При растворении шипучих смесей получают растворы с комфортным для внутреннего применения $pH \approx 6,0 \pm 0,5$.

Таблица 1 – Составы разработанных быстрорастворимых гранулятов

Компонент	Содержание на 100 г шипучего гранулята (г)			
	Состав №1	Состав №2	Состав №3	Состав №4
гранулирующая жидкость	<i>основной гранулят</i> – спиртовой раствор компонентов ТД <i>кислотный гранулят</i> – спиртовой раствор ПВП (1%)			
метронидазол	6,460	6,910	6,420	9,960
ПВП-10000 + ПВП (в кисл. грануляте)	$6,460 + 0,470 = 6,930$	$6,910 + 0,410 = 7,320$	$6,420 + 0,470 = 6,890$	$9,960 + 0,180 = 10,140$
метронидазол : ПВП	1:1			
карбонат натрия	38,780	41,440	38,540	–
гидрокарбонат натрия	–	–	–	59,740
кислота лимонная	45,870	–	–	–
кислота яблочная	–	42,370	–	–
кислота винная	–	–	46,190	18,200
натрия бензоат	1,960	1,960	1,960	1,960
кислота : основание	1,18:1,00	1,02:1,00	1,20:1,00	1,00:3,28
кисл.:основ. грануляты	1,00:1,12	1,00:1,29	1,00:1,10	1,00:4,33
основной гранулят	52,740	56,350	52,420	81,250
кисл. гранулят + 1%ПВП	47,260	43,650	47,580	18,750

Оценка качества полученных гранулятов

Проводилась по следующим показателям: внешний вид (Рисунок 5), подлинность, содержание АФС, насыпной объем, насыпная плотность, сыпучесть, угол естественного откоса, потеря в массе при высушивании, распадаемость, значение pH водного раствора, фракционный состав (Таблица 2). На основании проведенных исследований можно сделать вывод о том, что технологические характеристики полученных гранулятов удовлетворяют предъявляемым требованиям.

Технология быстрорастворимых таблеток

В ходе дальнейшей работы принято решение об изготовлении шипучих таблеток на основе полученных гранул. В состав смесей вводили скользящее ВВ – бензоат натрия 2%. К таблетированию были подготовлены шипучие грануляты, представление в Таблице 3. Отмечено, что получение таблеток состава №1 (с лимонной кислотой) вызывает технологические трудности – данный гранулят

Таблица 2 – Показатели качества гранул на момент изготовления

Показатель качества	Состав №1	Состав №2	Состав №3	Состав №4		
				основной	кислый	
Внешний вид	смесь светло-жёлтых и белых гранул			светло-жёлтые гранулы	белые гранулы	
Подлинность.						
1. Для проведения качественных реакций исследуемый образец (доза гранулята) разработанных шипучих составов растворяют в воде очищенной (200 мл, t=25±1°C). После полного растворения ЛФ (прекращение выделения пузырьков углекислого газа) к 16 мл полученного раствора добавляли 20 мг цинковой пыли и 0,5 мл хлороводородной кислоты (8,3%), после чего нагревали на водяной бане в течение 5 мин, охлаждали, прибавляли 2 мл натрия нитрита раствора 1%. Полученный раствор прибавляли к 1 мл β-нафтола щелочного раствора 2%, содержащего 0,5 г натрия ацетата. Наблюдают появление оранжево-красного окрашивания.						
2. УФ-спектр – максимум 318±2 нм (метронидазол).						
АФС в 1 дозе гранулята, n=5, (г)		0,250±0,003	0,250±0,003	0,250±0,003	0,250±0,003 ¹	-
Содержание АФС в растворах, n=5	(г/л)	1,25±0,02	1,25±0,02	1,25±0,02	1,25±0,02 ¹	-
	(%) ²	100,00±1,29	100,00±1,37	100,00±1,15	100,00±1,24 ¹	-
Насыпной объем, (мл)	V ₀	99,00±0,98	99,00±0,98	97,00±0,96	93,00±0,91	100,00±0,91
	V ₁₀	97,00±0,97	93,00±0,91	95,00±0,94	91,00±0,89	96,00±0,87
	V ₅₀₀	95,00±0,94	89,00±0,87	93,00±0,92	89,00±0,85	94,00±0,85
	V ₁₂₅₀	95,00±0,93	87,00±0,86	92,00±0,90	87,00±0,79	92,00±0,80
Способность к уплотн, (мл)		2,00±0,03	4,00±0,03	2,00±0,02	2,00±0,04	2,00±0,02
Насыпная плотность, n=6 (г/мл)	до	0,85±0,05	0,81±0,06	0,83±0,04	0,84±0,03	0,76±0,024
	после	0,89±0,03	0,92±0,04	0,89±0,03	0,89±0,02	0,83±0,025
Сыпучесть, n=5 (г/с)		15,8±0,4	12,7±0,6	11,6±0,5	9,8±0,3	11,1±0,2
Угол ест. откоса, n=5 (°)		25±2	22±2	24±2	23±2	25±2
Потеря в массе при высушивании, n=5, (%)		0,92±0,03	0,75±0,02	0,84±0,02	0,85±0,03	1,04±0,11
Распадаемость, n=6, (с)		62±25	76±35	137±43	160±33 ¹	
pH, n=5 (ед.)		6,0±0,5	6,0±0,5	6,0±0,5	6,0±0,5 ¹	

¹ – после растворения смеси кислого и основного гранулятов состава №4;

² – от массы АФС, содержащейся в растворяемой навеске гранулята.

Таблица 3 – Состав разработанных шипучих таблеток (на одну таблетку)

Ингредиент	Состав №2 (с яблочной кислотой)		Состав №3 (с винной кислотой)	
	(г)	(%)	(г)	(%)
Метронидазол	0,250	6,91	0,250	6,42
ПВП-10000 + ПВП (в кислом грануляте)	0,250+0,015=0,265	7,32	0,250+0,018=0,268	6,89
Натрия карбонат	1,500	41,44	1,500	38,54
Яблочная кислота	1,534	42,37	-	-
Винная кислота	-	-	1,798	46,19
Натрия бензоат	0,071	1,96	0,076	1,96
Масса таблетки	3,620	100,00	3,892	100,00
Основной гранулят	2,040	56,35	2,040	52,42
Кислотный гранулят	1,580	43,65	1,852	47,58

склонен к слипанию и обладает повышенной адгезией к пуансонам и матрице, приводящей к налипанию материала. Для выявления оптимального режима таблетирования изучали зависимость основных характеристик таблеток от

величины давления прессования. Исследовали влияние давления прессования на механическую прочность и на распадаемость (Рисунок 5). Установлено – оптимальное давление прессования для составов №2 и №3 составляет 10 и 13 кН, соответственно. Распадаемость шипучих таблеток составов №2 и №3 при указанном давлении соответствует: 147,0 и 234,0 сек, что удовлетворяет требованиям ГФ РФ (ОФС.1.4.1.0015.15) – до 5 мин.

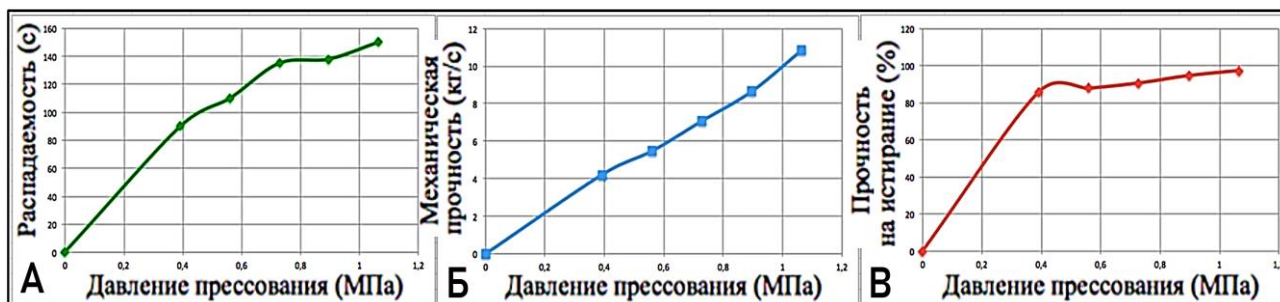
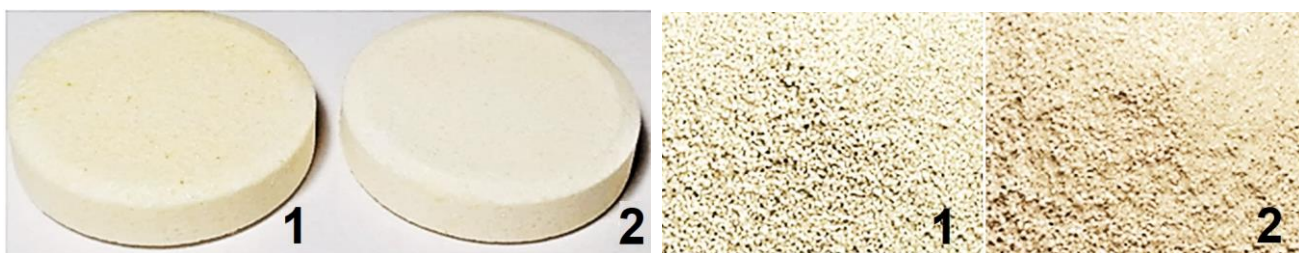


Рисунок 5 – Зависимость распадаемости (А), механической прочности на сжатие (Б) и истираемости (В) разработанных таблеток состава №1 от давления прессования.

Оценка качества полученных быстрорастворимых таблеток

Проводилась по следующим показателям: внешний вид (Рисунки 6 и 7), подлинность, содержание метронидазола, отклонение от средней массы, прочность на раздавливание, коэффициент прессуемости, истираемость, потеря в массе при высушивании, распадаемость, значение рН водного раствора. Согласно результатам, представленным в Таблице 4, показатели качества разработанных таблеток, в целом, являются удовлетворительными.



1 – состав №2; 2 – состав №3.

Рисунок 6 – Внешний вид быстрорастворимых таблеток

1 – кислотный; 2 – основной.

Рисунок 7 – Общий вид быстрорастворимых гранулятов

Изучение стабильности разработанных ЛФ при хранении. В ходе эксперимента разработанные образцы быстрорастворимых таблеток состава №3 (экономически более выгодного) были заложены на хранение. Испытание

осуществляли на кафедре аналитической, физической и коллоидной химии Института фармации им. А.П. Нелюбина Сеченовского Университета согласно ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств» (ГФ РФ). Изучаемые образцы таблеток делили на 2 группы. Образцы хранили в термостате Bio TDB-100 (Biosan, Латвия); для 1-й группы температура составляла 25°C, для 2-й: 40°C. С момента получения образцов и далее в процессе хранения (в естественных условиях: 1-й год – каждые 3 мес; 2-й год – каждые 6 мес; метод «ускоренного старения» – каждые 48 суток (эквивалентно 6 мес)) оценивали показатели: внешний вид, однородность, подлинность, количественное содержание АФС, потеря в массе при высушивании, распадаемость, рН водного раствора, прочность на раздавливание, истираемость. Образцы характеризовались постоянством основных характеристик в течение всего срока хранения. Рекомендуемый срок хранения для разработанных шипучих ЛФ в указанных условиях составляет 2 года.

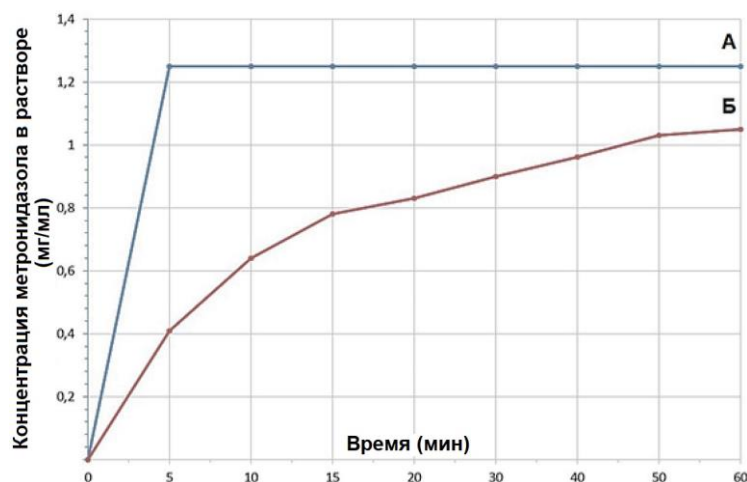
Таблица 4 – Результаты анализа разработанных шипучих таблеток

Наименование показателя		Состав №3
Внешний вид		таблетки желтовато-белого цвета
Определение подлинности		аналогично грануляту № 3 (см. таблицу 2)
Средняя масса, n=20, г		3,891±0,005
Содержание (дозировка) АФС, n=5 (г)		0,250±0,003
Концентрация метронидазола в готовом растворе, n=5	г/л	1,25±0,02
	% ¹	100,00±1,15
Прочность на раздавливание, n=5, Н ²		124,7±2,1
Коэффициент прессуемости, n=5, г/мм		0,778±0,001
Истираемость, n=10, %		1,31±0,02
Потеря в массе при высушивании, n=6, %		0,84±0,02
Распадаемость, n=6, с		234,0±35,0
рН, n=5		6,01±0,49
¹ – от массы АФС, перешедшей в раствор; ² – нагрузка, разрушающая таблетку, на боковую грань.		

Изучение высвобождения метронидазола из таблетированных форм

Растворение разработанных шипучих таблеток и заводских таблеток, существующих на рынке, проводили в одинаковых условиях – в стакане воды (0,2 л при 25°C) без перемешивания; время наблюдения – 5 мин. В случае обычных промышленных таблеток метронидазола (0,25 N40, ОАО «Фармстандарт-Лексредства», Россия), высвобождение АФС происходит

медленно, не превышая спустя 60 мин концентрации 1,03 мг/мл, что согласуется с данными о малой растворимости метронидазола (Рисунок 8). В тех же условиях разработанные шипучие ЛФ высвобождали 250 мг метронидазола в растворённом виде, менее чем за 5 мин – прозрачный раствор с терапевтической концентрацией 1,25 мг/мл, готовый к употреблению (Рисунок 9).



А – разработанные шипучие, таблетки;
 Б – таблетки промышленного производства.
 Рисунок 8 – Высвобождение метронидазола из таблеток



Рисунок 9 – Раствор 1,250 мг/мл (250 мг АФС в 200 мл воды), полученный из разработанных шипучих ЛФ с ТД метронидазола.

Изучение антимикробной активности разработанных таблеток *in vitro*

Проводили в лаборатории микробиологических исследований ФГБНУ ВИЛАР. Использовали метод двукратных серийных разведений препаратов в жидких питательных средах. Бактериостатическую активность определяли на мясо-пептонном бульоне, фунгистатическую – на среде Сабуро. Эффекты определяли по минимальному, подавляющему рост бактерий и грибов разведению экстракта, при котором визуально не наблюдали роста микроорганизмов. Использовали: патогенные грамположительные и грамотрицательные бактерии, дрожжеподобные и мицелиальные грибы. Анализируемые образцы: субстанция метронидазола; порошок промышленных таблеток – форма применения раствор с концентрацией АФС 0,125%; разработанные таблетки метронидазола (составы №2 и №3) – растворы с концентрацией АФС 0,125%; плацебо разработанных таблеток – растворы; раствор для инфузий 5 мг/мл – концентрация АФС 0,5%. Результаты

исследования представлены в Таблице 5. Установлено наличие антимикробной активности у всех изученных образцов метронидазола, которая совпадает с активностью субстанции, входящей в их состав.

Таблица 5 – Антимикробная активность образцов (мкг/мл, разведение)

Название образца	Staphylococcus aureus 209 P	Escherichia coli ATCC 25922	Proteus vulgaris ATCC 6896	Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	Candida albicans ATCC 10231	Microsporium canis 352
Метронидазол (трихопол) субстанция	500	500	500	2000 част. 1000	4000	4000 част. 2000
Таблетки метронидазола промышленные	500	1000	500	2000 част. 1000	част. 4000	4000
Разработанные таблетки с ТД метронидазола измельченные	состав №2	500	1000	1000 част. 500	2000	4000 част. 2000
	состав №3	1000	1000	1000 част. 500	2000	4000 част. 1000
Плацебо для таблеток	состав №2	н/а 1:2	н/а 1:2	н/а 1:2	н/а 1:2	н/а 1:2
	состав №3	н/а 1:2	н/а 1:2	н/а 1:2	н/а 1:2	н/а 1:2
Раствор для инфузий изотонический (метрогил)	500	1250	500	част. 2500	част. 4000	4000 част. 2000
Бензоат натрия	2000	2000	2000	2000	част. 4000	2000

Данные указывают на отсутствие образования, каких-либо нерастворимых химических комплексов с ВВ таблеток, которые могли бы препятствовать высвобождению АФС и/или снижать её терапевтический эффект. Можно растворять разработанные таблетки в 100 мл воды, тем самым повысив их активность в 2 раза. Полученные данные позволяют рекомендовать разработанные шипучие ЛФ в качестве нового ЛП – быстрорастворимых таблеток и гранул метронидазола для лечения воспалительных заболеваний в т. ч. полости рта.

Технологическая схема быстрорастворимых форм с ТД метронидазола

По результатам исследований предложена технологическая схема (Рисунок 10) производства шипучих гранул и таблеток методом отдельного влажного гранулирования, включающих метронидазол в виде ТД с ПВП. Данный вариант перспективен отсутствием отдельной стадии получения ТД, которая протекает одновременно с получением гранулята – в продуктивном контейнере установки, куда компоненты ТД поступают в виде раствора метронидазола и ПВП. В основе

разработанной схемы лежит технология изготовления составов №1-4 для шипучих гранулятов и составов №2 и №3 для шипучих таблеток.

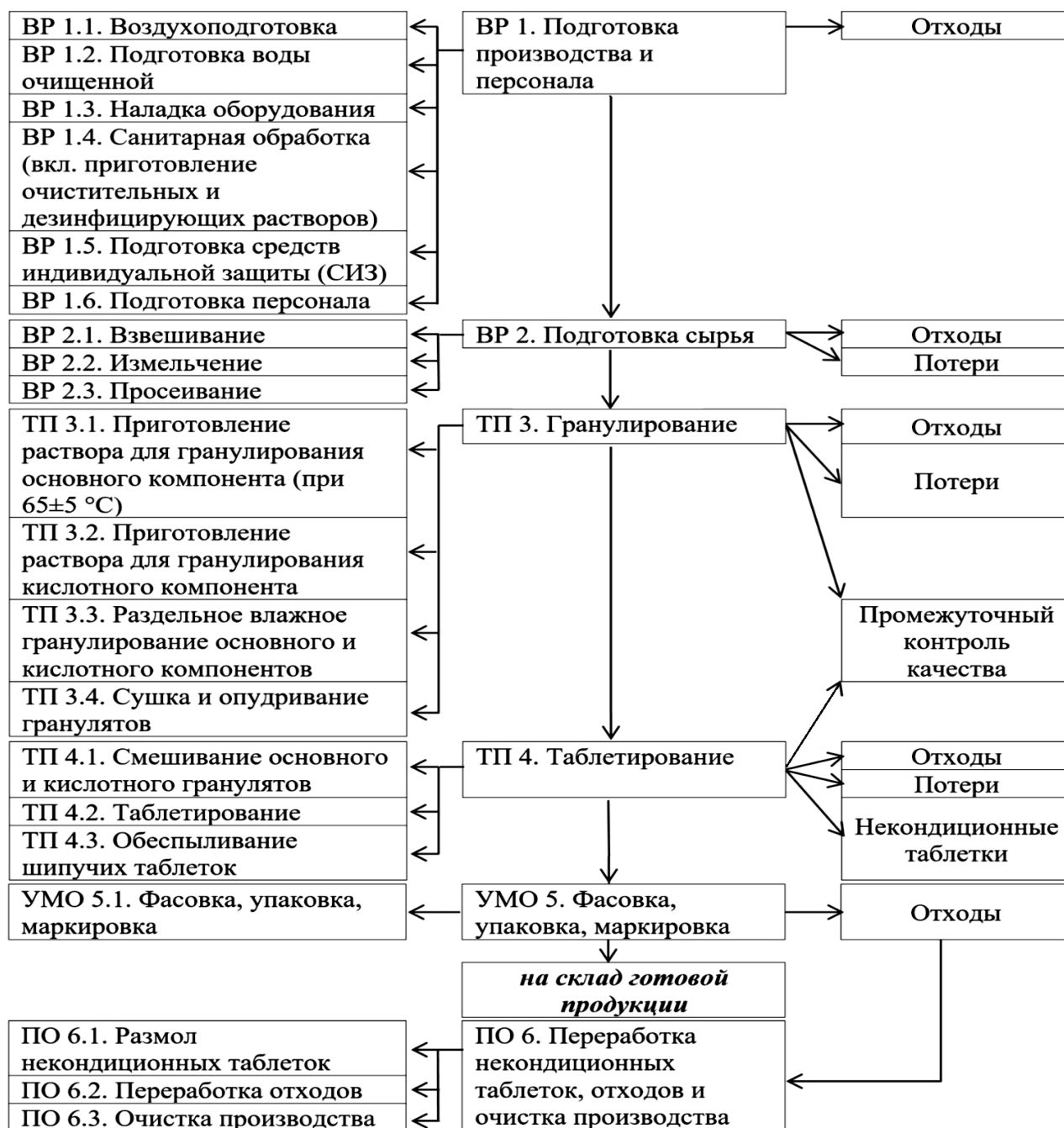


Рисунок 10 – Технологическая схема шипучих ЛФ с ТД метронидазола

Технологический процесс получения (шипучих) ЛФ, содержащих ТД метронидазола, включает следующие стадии: **BP 1. Санитарная подготовка производства** (подготовка помещений и оборудования; персонала и его технической одежды; воздуха, воды очищенной, дезинфицирующих растворов). **BP 2. Подготовка сырья.** Дозируют, просеивают, собирая в отдельные

контейнеры, основные и кислотные компоненты (карбонат или гидрокарбонат натрия; винную, яблочную или лимонную кислоту); компоненты ТД (метронидазол и ПВП), и остальные ВВ (натрия бензоат). Фракции частиц более 250 μ и менее 45 μ не гранулируют. Готовят ГЖ: для основного гранулята – АФС и ПВП (1:1 по массе) растворяют в мин. объеме этанола 96% при $65\pm 5^\circ\text{C}$; для кислотного гранулята – 1% раствор ПВП в этаноле 96% при $25\pm 1^\circ\text{C}$. **ТП 3.**

Получение массы для таблетирования. Подготовленные основной и кислотный компоненты, поочередно загружают в контейнер сушилки-гранулятора, проводя гранулирование соответствующей ГЖ. Полученные грануляты сушат, просеивают (сита 1 мм). В случае карбоната натрия смешивают в соответствующем соотношении. В случае гидрокарбоната натрия – не смешивают. Опудривают скользящим ВВ (натрия бензоат – 2% от опудриваемой массы). В пробе, отобранной из полученной смеси, определяют количественное содержание АФС. В случае положительных результатов опудренный гранулят передают на таблетирование или фасовку в водонепроницаемые упаковки (тубусы или саше). **ТП 4. Таблетирование и отбраковка.** Таблетирование смеси осуществляют при соответствующем давлении прессования на плоскоцилиндрических пуансонах диаметром 25 мм. Контроль качества получаемых таблеток проводят на основании оценки точности дозирования – определение средней массы и содержания АФС в растворах разработанных шипучих ЛФ, значения рН полученного раствора, а также по результатам тестов: на распадаемость, истираемость, механическую прочность на сжатие и остаточную влажность. По окончании таблетирования полученные таблетки отсеивают от пыли и возможного брака при помощи сит (5 мм). Некондиционные таблетки передают на операцию ПО 6. **УМО 5. Фасовка и упаковка.** Таблетки упаковывают по 20 штук в пропиленовый тубус с защелкивающейся пробкой-колпачком из полиэтилена низкой плотности, содержащей высушивающий агент. Грануляты фасуют в водонепроницаемые пакетики (саше). В случае гидрокарбоната натрия упаковку кислотного и основного гранулятов в саше

проводят *раздельно* (через перегородку). Пакетики упаковывают по 20 штук в картонные коробки. На упаковки наклеивают этикетки. Готовую продукцию упаковывают в транспортную тару и отправляют на склад. Отдел контроля качества проверяет качество продукции, затем уполномоченное лицо принимает решение о выпуске серии в оборот. **ПО 6. Размол некондиционных таблеток.** Размол некондиционных таблеток с передачей полученного порошка на ТП 4.

Предложенная схема получения быстрорастворимых шипучих таблеток и гранулятов метронидазола технически наиболее совершенна и перспективна, так как совмещает получение ТД, смешивание компонентов, грануляцию, сушку, опудривание в одном аппарате и организует непрерывное производство с высокой производительностью.

Особенность данной схемы – возможность применения в т.ч. компонентов с кристаллизационной водой. Таким образом, производство открыто для использования более широкой сырьевой базы. Разработанная технология быстрорастворимых ЛФ с ТД метронидазола позволяет повысить его растворимость, БД, снизить раздражающее действие на слизистую ЖКТ и упростить способ применения, сделав его более удобным.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Осуществлён АФС-скрининг для последующего введения в виде ТД в быстрорастворимые ЛФ. В качестве потенциальной АФС выбран метронидазол, имеющий ЛФ – таблетки; обладающих малой растворимостью – 1:100 в воде; не имеющий российском фарм. рынке быстрорастворимых ЛФ.
2. Предложен оптимальный полимер-носитель для введения метронидазола в ТД – ПВП-10000, максимально повышающий растворимость и скорость растворения АФС в воде.
3. Обоснованы научно и разработаны экспериментально состав и биофармацевтически оптимальная технология введения метронидазола в ТД, применяемых для дальнейшего введения в шипучие ЛФ. Предложено максимально улучшающее процесс растворения отношение (по массе)

ингредиентов ТД (АФС:ПВП-10000) – 1:1. Введение метронидазола в ТД оптимально методом растворения ингредиентов в спирте этиловом 95% с его дальнейшим удалением (под вакуумом) при температуре не выше $65\pm 2^{\circ}\text{C}$.

4. Оценены возможные факторы, способствующие оптимизации высвобождения метронидазола из разработанных ТД – потеря АФС кристалличности, растворение АФС в ПВП (твёрдый раствор), а также высвобождение АФС из ТД (в процессе её растворения в воде) в форме истинных и коллоидных растворов.

5. Обоснованы состав и предложены технологические схемы быстрорастворимых ЛФ с применением ТД метронидазол-носитель – «шипучие» гранулы и таблетки. Предложены 4 состава, содержащие: ТД (АФС:ПВП-10000); компоненты шипучей пары (натрия карбонат/гидрокарбонат, винную, яблочную и лимонную кислоты) скользящее ВВ – натрия бензоат. Основной компонент гранулируют раствором (1:1 по массе) АФС и ПВП в спирте этиловом 95% при температуре $65\pm 5^{\circ}\text{C}$. Кислотный – 1% раствором ПВП в спирте этиловом 95%. Грануляты опудривают; совместно или отдельно в соотношении, необходимом для получения $\text{pH}=6,0\pm 0,5$ при растворении ЛФ в воде; таблетуют или фасуют в герметичные упаковки.

6. Проведена стандартизация «шипучих» таблеток и гранул с ТД метронидазола. Доказано наличие антимикробной активности разработанных ЛФ. Доказана стабильность разработанных ЛФ при хранении в течение 2 лет в естественных условиях.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Разработанная технология получения таблеток и гранул, содержащих ТД метронидазола, позволяет получить твердые ЛФ с улучшенными биофармацевтическими характеристиками, отвечающими требованиям НД, однако предложенная технология не исключает иных ВВ, например, носителей ТД вместо ПВП-10000, при условии сохранения основных показателей качества получаемых ЛФ.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Модификация предложенной рецептуры с применением альтернативного комплекса ВВ и технологических приёмов для введения одновременно с метронидазолом других АФС, назначаемых в ряде патологий совместно с ним. Дальнейшие биофармацевтические исследования могут быть направлены на введение ТД метронидазола в другой тип ЛФ (кремы, гели, суппозитории и т.д.).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Нарышкин, С.Р.** Применение твердых дисперсных систем в фармации / С.Ю. Силаева, А.С. Беленова, **С.Р. Нарышкин** и др. // **Конденсированные среды и межфазные границы.** – 2020. – Т. 22. № 2. – С. 3-11. DOI: 10.17308/kcmf.2020.22/2820.
2. **Naryshkin, S.R.** Use of solid dispersion systems in pharmacy / S.Yu. Silaeva, A.S. Belenova, **S.R. Naryshkin** et al. // **Condensed Matter and Interphases.** – 2020. – Vol. 22. – N. 2. – P. 173-181. DOI: 10.17308/kcmf.2020.22/2820 [Scopus].
3. **Нарышкин, С.Р.** Метронидазол – 60 лет применения / И.И. Краснюк (мл.), **С.Р. Нарышкин**, А.В. Беляцкая и др. // **Вестник воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.** – 2020. – № 1. – С. 81-90.
4. **Нарышкин, С.Р.** Влияние полимера на динамику растворения антипротозойных лекарственных средств / **С.Р. Нарышкин**, А.О. Елагина, И.И. Краснюк (мл.) и др. // Наука XXI век. Июнь. 2020. Сборник статей V Международной научной конференции. Чешская Республика, Карловы Вары – Россия, Москва. – 2020. – С. 8-13.
5. **Naryshkin, S.R.** Effect of solid dispersions on the solubility of metronidazole / I.I. Krasnyuk (Jr.), **S.R. Naryshkin**, I.I. Krasnyuk et al. // **Farmatsiya i Farmakologiya.** – 2021. – Vol. 9. – N. 3. – P. 195-204. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-3-195-204 [Scopus].
6. **Нарышкин, С.Р.** Изучение твёрдых дисперсий метронидазола рентгено-фазовым методом / **С.Р. Нарышкин**, И.И. Краснюк (мл.), И.И. Краснюк и др. // Естественные и медицинские науки. Студенческий научный форум: электронный сборник статей по материалам XXXVII международной студенческой научно-практической конференции. – 2020. – № 3(37). – С. 26-29.
7. **Нарышкин, С.Р.** Изучение твёрдых дисперсий метронидазола методом микроскопии / **С.Р. Нарышкин**, И.И. Краснюк (мл.), И.И. Краснюк и др. // Естественные науки и медицина: теория и практика: сборник статей по материалам XXXI-XXXII международной научно-практической конференции. № 2-3(19). – Новосибирск: СибАК. – 2021. – С. 52-57.
8. **Нарышкин, С.Р.** Изучение оптических свойств растворов твёрдой дисперсии метронидазола / **С.Р. Нарышкин**, И.И. Краснюк (мл.), И.И. Краснюк и др. // Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования: сб. ст. по материалам XLVI Международной научно-практической конференции «Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования». № 2(41). – М., Изд. «Интернаука». – 2021. – С. 80-86. DOI: 10.32743/25419854.2021.3.42.251942.
9. **Нарышкин, С.Р.** Изучение специфической активности инновационной лекарственной формы химиотерапевтического средства / **С.Р. Нарышкин**, И.И. Краснюк (мл.), И.И. Краснюк и др. // **Фармация.** – 2022. – Т. 71. – № 4. – С. 19-25. DOI: 10.29296/25419218-2022-04-03.