

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201900027** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.05.29

(22) Дата подачи заявки
2018.11.08

(51) Int. Cl. *A61K 9/14* (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01)
A61K 47/42 (2006.01)

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

(31) 1801242
(32) 2018.10.05
(33) TJ
(96) 18001030 (TJ) 2018.11.08

(71) Заявитель:
**ИНСТИТУТ ХИМИИ ИМ. В.И.
НИКИТИНА АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН
(TJ)**

(72) Изобретатель:
**Мухидинов Зайниддин Камарович,
Бобокалонов Джамшед
Толехмуродович, Насриддинов
Абубакр Саидкулович (TJ), Лиу Лин
Шу (US)**

(57) Изобретение относится к медицине, фармацевтике и биотехнологии и относится к способам максимальной доставки лекарственных или биологически активных веществ в желудочно-кишечный тракт с использованием систем доставки лекарственных веществ (СДЛ) на основе пищевых биополимеров с целью регулируемого их высвобождения. Настоящее изобретение имеет отношение к созданию новых улучшенных композиций для доставки легкоразлагаемых, плохо растворимых биологически активных и лекарственных веществ (ЛВ) в желудке и с целью снижения их побочного действия на организм человека, а также к улучшенным композициям для лечения инфекционных, воспалительных и раковых заболеваний химиотерапией. Разработка систем на основе биосовместимых биополимеров из пищевых продуктов и внедрение их на практике, как новое поколение функциональной пищи, предоставляет пациентам ряд облегчений по дозировке, приёму, улучшает биодоступность и позволяет уменьшению побочных эффектов активного ингредиента. В предложенном изобретении разработаны новые СДЛ на основе карбоксилсодержащих полисахаридов (эфиры целлюлозы и пектинов различного происхождения) и зеина кукурузы. Установлено, что степень насыщения лекарством отличается в зависимости от структурных особенностей пектиновых полисахаридов и способа формирования микросфер. Показано, что, используя пектины различного происхождения, можно получать комплексы с определенными характеристиками, с заданным составом, структурой и степенью насыщения лекарством. На основании кинетических исследований установлен процесс формирования зеин-пектиновых гидрогелей с различными пектинами, выявлен механизм процесса высвобождения модельного ЛВ из них путем изменения типа и соотношения биополимеров, что позволяет регулировать скоростью диффузии и является необходимым при создании матричных пролонгированных систем для контролируемого высвобождения ЛВ. Таким образом, данное изобретение открывает путь к созданию лекарственных форм нового поколения с улучшенными фармакокинетическими свойствами, в особенности, для препаратов с ярко выраженной токсичностью (антибиотики, противовоспалительные, противотуберкулёзные, противораковые, а также вакцины и гормоны).

201900027
A1

201900027

A1

Способ формирования гидрогелевых микросфер для создания систем доставки лекарственных веществ

МПК: A61K 9/10; A61K 9/14; A61K 47/30
C08B37/08; C08H1/06; C08J3/075

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

В соответствии с настоящим изобретением лекарственное или биологически активное средство заключено в носитель на основе пектинового гидрогеля с включением в него гидрофобного белка зеина, способного к высвобождению заключённого лекарственного средства в результате действия кишечной среды и ферментов. Настоящее изобретение имеет отношение к новым улучшенным композициям для доставки легко-разлагаемых, плохо растворимых биологически-активных и лекарственных веществ (ЛВ) в желудке и с целью снижения их побочного действия на организм человека, а также с улучшенной композицией для лечения раковых заболеваний химиотерапией. Разработка систем на основе биосовместимых биополимеров, из пищевых продуктов, и внедрение их на практике, как новое поколение функциональной пищи, предоставляет пациентам ряд облегчений по дозировке, приёму, улучшает биодоступность и уменьшает побочные эффекты активного ингредиента.

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

Основным местом для доставки многих ЛВ предназначенных для трансфера в кровоток является кишечное пространство, особенно полость толстой кишки. Доставка ЛВ в эту зону ЖКТ обладает значительным терапевтическим преимуществом для пациентов с точки зрения, как местного, так и системного лечения. Специфичность толстой кишки

совместимо для систем, использующие природные материалы, которые деградируются бактериальными ферментами толстой кишки.

Поэтому системы на основе биоразрушающихся и биосовместимых полимеров, особенно пищевых полимеров, привлекают особый интерес учёных, медиков и фармацевтических компаний. Уровень организации пористой структуры гидрогелей можно контролировать путем изменения смешанных составов биополимеров, их поперечных связей и способностью набухать в различных средах. Путем изменения пористости геля можно достичь эффективности инкапсулирования ЛВ, пищевых ингредиентов (ПИ) и высвобождения этих веществ из гидрогелиевых матриц посредством контролируемого набухания и деградации биополимеров и диффузии ЛВ.

Известен способ [3] получения СДЛ различных типов, сшитые биокомпозиты получают с использованием белков с гиалурановой кислотой. В процессе получения композита полисахарид и белковый раствор смешивают при умеренных значениях pH с добавлением небольшого количества кислоты и щелочи для сшивания, которые могут быть использованы для приготовления различных типов композиции, таких как мембраны, губки, волокна, трубы или микро гранулярные формы и т.д. Однако в данном способе отсутствуют процессы внедрения ЛВ в композицию и условия ее доставки в соответствующие среды и опыты, что создаёт трудности в оценке качества СДЛ.

Известен способ получения СДЛ в виде гидрогелиевых микросфер на основе группы биополимеров [4], в соответствии, с которыми биосовместимые гидрогелиевые микросферы получают изокисленный полисахарид, выбранный из группы, состоящих из хондроитин сульфата, альгината, гиалуроновой кислоты, водорастворимого крахмала и его производных, а также водорастворимых смол и их производных, и аминсодержащих полимеров, выбранного из коллагена, хитозана, их производных и смесей. Гидрогелиевые защитные оболочки согласно данному прототипу могут быть использованы для изготовления гелей в точке назначения в виде матрикса. Использование данных гелей предназначено для замедленного высвобождения стволовых клеток и биологически активных молекул, таких как лекарства и факторы роста. Они также могут быть использованы в качестве матрицы для средств регенерации тканей, таких как ткани роговицы.

В качестве прототипа данному изобретению, по практическому использованию СДЛ, выбрана патентованная система пероральной доставки

лекарственных веществ с контролируемым высвобождением в область кишечника на основе интерполиэлектrolитного комплекса (ИПЭК), полученного при взаимодействии редкосшитой полиакриловой кислоты с сополимером диметиламиноэтилметакрилатом коммерческих поликатионов нейтральных эфиров метакриловой кислоты[5].

Таким образом, полученные гидрогелиевые микросферы известными способами [4,5] могут быть использованы для изготовления СДЛ. Преимущественно, в некоторых аспектах, гидрогелиевые микросферы, по данному способу, могут быть изготовлены в широком диапазоне pH среды, что обеспечивает формирование разнообразных матриц. Изменяя pH, можно влиять на пористость, взаимодействие с клетками, а также прозрачность каркасных микросфер.

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

Целью настоящего изобретения является создание пористых биоразлагаемых композиций для пероральной и устойчивой доставки активных ингредиентов в область кишечника из пищевых источников, которые хорошо переносятся людьми (т.е. являются пищевыми продуктами) и могут доставлять большее количество активного ингредиента по сравнению с известными композициями, что приведёт к существенному улучшению их фармакокинетических параметров. Соответственно, изобретение обеспечивает получение микропористых композиций поперечно сшитых полианионов пектиновых полисахаридов (ПП) в присутствии минеральных ионов с включением гидрофобных белков, в которых может быть введено более 50 мас.% водорастворимого и нерастворимого активного вещества и из которого он может высвобождаться контролируемым образом в кишечное пространство.

Сущность изобретения заключается в том, что при диспергировании водного раствора полимерного анионного материала (такого как низкометилированный пектин или другие полисахариды с карбоксильными функциональными группами) с гидрофобным, спирторастворимым белком

(например, зеин) в присутствии ионов многовалентных металлов (например, кальций или цинк) и ЛВ, образуется коацерват в виде высокопористой биоразлагаемой микросферы, в порах которой активные ингредиенты (ЛВ или терапевтические агенты) могут захватываться [6-9]. Такие микросферы при прохождении в верхнюю область ЖКТ, где pH среды меньше 1.8 не набухают и тем самым защищают активные ингредиенты, как только они попадают в область толстого кишечника, где pH больше 6.0, начинают набухать и полисахаридная часть микросфер разрушится под действием ферментов. Эти факторы позволяют контролировать высвобождение включённого активного ингредиента в широких пределах времени.

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

• Процессы формирования микросфер в виде гидрогелей на основе биополимеров зеина кукурузы и низкометилованных (НМ)-пектинов различного происхождения, водорастворимых эфиров целлюлозы с инкапсулированным модельным ЛВ и физико-химическими характеристиками полученных гидрогелей с целью получения СДЛ стойких к преждевременному высвобождению в верхней части ЖКТ.

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

Согласно другим вариантам осуществления, эта композиция может дополнительно включать в себя ЛВ, выбранную из группы, состоящей из противовоспалительных агентов; антибактериальные, противогрибковые, противопаразитарные, противовирусные, противоопухолевые, анальгетики, вакцины, человеческий гормон роста, инсулиноподобный фактор роста и тому подобное; антигистаминные препараты их комбинации и производные.

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

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

Согласно некоторым вариантам осуществления матричного носителя - СДЛ может включать в себя два или несколько биополимеров. Согласно некоторым вариантам осуществления, на первой фазе биополимеры, используемые в способах и композициях данного изобретения, могут включать в себя любой гидрофильный биополимер, имеющий карбоксильные группы и гидрофобный биополимер. Например, первый биополимер может включать в себя линейный полимер или разветвлённый полисахарид, из ряда пектиновых полисахаридов и производных целлюлозы. В некоторых примерных вариантах осуществления, этот биополимер включает в себя НМ-пектин полученный из яблок, цитрусовых, подсолнечника и других растительных источников. В некоторых примерных вариантах осуществления, этот биополимер включает в себя НМ-пектин полученный из яблок, цитрусовых, подсолнечника и других растительных источников. В некоторых вариантах осуществления, этот биополимер включает в себя водорастворимые эфиры целлюлозы.

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

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

Формирование гидрогелей на основе различных пектинов, карбоксиметилцеллюлозы и зеина.

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

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

В работе [6], нами, было показано, что ионы Ca^{+2} или Zn^{+2} формируют с НМ-пектинами гидрогели с разными порами, тем самым регулируя содержание ионов металла (Ca^{+2} или Zn^{+2}), можно упорядочить гидрогелиевую сетку. Гидрогели на основе НМ- пектинов, формируются посредством ионных поперечных связей металла, включение зеина в полимерную сетку происходит посредством перекрёстной сшивки, включая водородные связи и гидрофобные взаимодействия между белком и полисахаридом, который позволяет регулировать степень набухания микросфер [7]. Показано, что природа взаимодействия белков с полисахаридами зависит, прежде всего, от структуры биополимеров и условий среды. В зависимости от природы и свойств полисахарида (пектин или карбоксиметилцеллюлоза), гидрогелиевые микросферы могут отличаться по структуре [8, 9]. Хорошо сформированные микросферы, в форме шариков, были нами получены с цитрусовым - НМ-9 и высокометилированным яблочным – ВМ-52 пектинами. Показано, что, регулируя содержание ионов металла (Ca^{+2} или Zn^{+2}), можно упорядочить гидрогелиевую сетку и получать композиты с оптимальной структурой, высокой степенью инкапсулированного ЛВ и контролируемым выходом в условиях ЖКТ [10,11].

Следует отметить, что в отличие от НМ-пектинов, выделенных из цитрусовых и яблок, пектин подсолнечника отличается наименьшей степенью полидисперсности, низкой молекулярной массой, и преобладанием линейных гомогалактуронов с небольшим количеством нейтральных

сахаров, способных обеспечить оптимальную плотность поперечных сшивок, что в свою очередь приводит к нарушению баланса между эластичностью и желаемой прочностью полимерной композиции. За счёт большого количества поперечных сшивок с ионами двухвалентных металлов подсолнечный пектин способен образовывать более хрупкие гели. Высокое содержание карбоксильных групп будет способствовать сильному электростатическому взаимодействию с протеинами, что, в свою очередь, может привести к утрате гибкости и подвижности полимерной цепи. Плотность поперечных сшивок влияет на степень набухания, механическую прочность и эластичность полимерной цепи. Высокая плотность поперечных сшивок приводит к более высокой механической прочности, но при этом понижается эластичность и набухание, что может вызывать образование хрупких гелей [11]. Поэтому для эффективного использования гидрогелей на основе полисахарида и белков, как носителей ЛВ, необходимо контролировать образование поперечных сшивок.

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

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

Таблица 1

Характеристика пектинов, выделенных из различных источников сырья

Источник сырья	Шифр пектина	(ГА), %	СЭ, %	M_w (кД)
Цитрусовый, GENUL/200, CP Kelco	ЦПНМ-09	79	9.0	212
Яблочный, Шахринав-85-1.8	ЯПНМ-38	65	38.0	118
Яблочный, Муминобад-120-2.0	ЯМВМ-52	71	52.0	134
Подсолнечный, ПП-85-2	ППНМ-26	69	26.2	180

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

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

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

Применение композиции матричного носителя

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

Описанные здесь композиции матричных носителей могут быть объединены с одним или несколькими фармацевтическими агентами, как описано ниже, с получением фармацевтической композиции/системы доставки, подходящей для введения. Введение может включать в себя любой тип введения, такой как, например, пероральное и парентеральное введение, местное введение и т.п. Главным аспектом применения гидрогелей в фармации является временной профиль подачи ЛВ в организм, отличный от фармакодинамики классических перорального или парентерального введения низкомолекулярных веществ.

Традиционное введение лекарственных форм характеризуется быстрым и неконтролируемым высвобождением активных компонентов (ЛВ) в организме. Разработка лекарственных форм с направленной доставкой и контролируемым высвобождением ЛВ позволит повысить эффективность,

удерживать постоянный уровень их терапевтической концентрации в плазме крови, и, тем самым, открывает возможность использования принципиально новых групп действующих веществ. Как показала практика, такая система СДЛ даст возможность уменьшить курсовую дозу, устранить раздражающее действие и передозировку ЛВ, уменьшить частоту проявлений побочных эффектов.

Для исследования кинетики процесса были приготовлены буферы с рН 1.2 (HCl/ KCl 0.2M) и рН 6.4 (0.2M фосфатный буфер). Высушенные комплексы помещали в диализные мешки в количестве 50 мг, заливали 50 мл буфера рН 1.2 и рН 6.4, помещали в один из емкостей (объемом 900 мл) содержащей 400 мл соответствующей среды ЖКТ в прибор для определения растворимости ЛВ при 37°C. Через определённые промежутки времени измеряли на спектрофотометре UV1 Thermo Spectronic, (Англия) экстинкцию растворов при 355 нм и по калибровочному графику, построенному по стандартному РХ, определяли количество высвобожденного лекарства (M_t). Общее количество вовлечённого лекарства в гидрогелиевые комплексы (M_0), определяли, как описано в работах [9,10].

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

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

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

где, Q - количество высвободившегося ЛВ, k - константа и t - время. Для оценки механизма диффузии ЛВ в дальнейшем, кинетические данные обрабатывались, используя степенную зависимость кинетики выхода ЛВ по уравнению Пеппас [15]:

$$M_t/M_0 = Kt^n \quad (2),$$

где, M_t/M_0 - фракция высвободившегося ЛВ, K - константа, t - время и n - экспонент показывающий механизм транспорта ЛВ из полимерного матрикса: для Фиковской диффузии $n=0.5$; когда $n=1.0$ процесс транспорта подчиняется аномальной диффузии, так называемый Случай II. Это уравнение также может предсказать процессы Супер случая II ($n>1.0$), когда транспорт происходит по механизму нулевого порядка.

Изучение заявленного состава биополимеров с ЛВ в опытах *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo* позволили выбрать оптимальные соотношения компонентов,

обеспечивающие дозированное высвобождение ЛВ (например, кинетика выделения РХ по нулевому порядку) в условиях кишечника.

Примеры приготовления композиций матричных носителей

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

1. Приготовление растворов биополимеров, удаление нерастворившихся частиц и микрогелей.
2. Определение точки гелеобразования биополимеров методом турбидиметрии.
3. Введение фармацевтического агента (ЛВ и других ингредиентов), если водорастворимый в водный раствор первого биополимера или нерастворимый в воде ЛВ в спиртовой раствор во второй биополимер.
4. Смешивание и гомогенизация этой системы может принимать во внимание чувствительность этого фармацевтического агента к механическому стрессу. Этот процесс может выполняться при инертной атмосфере с контролем температуры, скорости и времени.
5. Укрепление композиции микрофер носителя может быть достигнуто поддержанием при регулируемой температуре (например, в диапазоне приблизительно 1-37°C) в течение 1-72 часов с добавлением соли многовалентных металлов.
6. Промывка несвязанного (не адсорбированного) фармацевтического агента из гидрогелиевых микрофер.

Согласно некоторым вариантам осуществления, порядок стадий приготовления может зависеть от конкретного используемого оборудования и свойств фармацевтического агента и может быть изменён соответственно.

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

Пример 1: Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из цитрусовых (GENUL/200, СРKelco) в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:3, содержащему РХ, CaCl_2 при комнатной температуре. Сформированные

комплексы центрифугировали при 6.000 об/мин в течение 15 мин, маточники сливали, а осадки трижды промывали дистиллированной водой от непрореагировавших компонентов. Количество несвязанного в комплексы РХ определяли в маточнике и промывных водах на спектрофотометре при 355 нм. Из полученных данных рассчитывали количество РХ, инкапсулированного в комплексы. Для достоверности результатов также определяли содержание РХ в комплексах экстракцией буфером, содержащим: 100 мл 75% этанола, 0.4 г NaOH и 0.5% Твин-20 при 37°C из гидрогелей до и после их высушивания. Полученные результаты по характеристикам гидрогелиевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П составило 1.35, содержание РХ в геле 70.2% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составила 21.2.

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

Пример 3. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из яблок (Шахринав) в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:3, содержащему РХ, $CaCl_2$ при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристикам гидрогелиевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П в геле составило 1.30, содержание РХ в геле 59.8% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составила 18.9.

Пример 4. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из яблок (Шахринав) в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:3, содержащему РХ,

ZnSO_4 при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристикам гидрогелиевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П в геле составило 1.31, содержание РХ в геле 61.9% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составила 10.9.

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

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

Пример 7. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из корзинки подсолнечника в дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:5, содержащему РХ, CaCl_2 при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристикам гидрогелиевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П составило 1.96, содержание РХ в геле 55.8% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составила 5.3.

Пример 8. Для получения композитов готовили следующие растворы: зеин в 75% этаноле, НМ-пектин, полученный из корзинки подсолнечника в

дистиллированной воде и водонерастворимого ЛВ РХ в 75% этаноле. З/П комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, соотношением 1:5, содержащему РХ, $ZnSO_4$ при комнатной температуре. Все остальные операции повторяли также как в примере 1. Полученные результаты по характеристикам гидрогелиевых микросфер приведены в таблице 2. Соотношение З/П составило 2.27, содержание РХ в геле 57.8% и степень ее набухания в фосфатном буфере (рН 6.4) составила 4.0.

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

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

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

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

Таблица 2

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

Примеры	Тип пектина	З/П в геле	Выход продуктов		Степень набухания (S)	Содержание РХ, % в геле
			Гидрогель, %	Пектин несвязанный, %		
1	ЦПНМ-09 Ca^{2+}	1.35	57.36	24.0	21.25	70.2
2	ЦПНМ-09 Zn^{2+}	1.88	75.97	9.5	16.17	70.7
3	ЯПНМ-38 Ca^{2+}	1.30	87.18	3.6	18.94	59.8
4	ЯПНМ-38 Zn^{2+}	1.31	92.32	2.1	10.95	61.9
5	ЯПВМ-52 Ca^{2+}	2.63	36.36	62.0	32.23	54.1
6	ЯПВМ-52 Zn^{2+}	2,70	26.88	72.0	22.62	77.1
7	ППНМ-26 Ca^{2+}	1.96	60.87	39.0	5.30	55.8
8	ППНМ-26 Zn^{2+}	2.27	65.38	34.0	4.00	57.8
9	КМЦ-78	2.60	45.50	-	48.57	30.0
10	КМЦ-78	1.26	22.07	-	27.34	27.0

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

При замене ионов Ca^{2+} на ионы Zn^{2+} выход микросфер с НМ-цитрусовым пектином несколько увеличился, в результате уменьшилось количество жёлтого осадка и непрореагировавшего пектина. Выход гидрогелей с яблочным пектином ЯП ВМ-52, независимо от соотношения зеина и пектина (З/П), был значительно ниже (36-37%), так как большая часть пектина не участвовала в формировании геля.

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

Из данных табл.2 следует, что с увеличением содержания КМЦ выход комплексов заметно уменьшается от 48.57% до 27.34%, степень набухания

падает (от 48.57% до 27.34%). Можно предположить, что комплекс с высокой степенью набухания будет быстрее высвобождать лекарственное средство в условиях желудочно-кишечного тракта, а комплексы с низкой степенью набухания будут сдерживать высвобождение РХ в кишечном пространстве. В то же время, при всех выбранных соотношениях З/КМЦ степень связывания РХ зависит от доли зеина в комплексе и при повышении содержания зеина усиливается от 27 до 47%.

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

Степень набухания гидрогелей представляет особое значение при изучении кинетики высвобождения ЛВ в ЖКТ: высокая степень набухания будет способствовать преждевременному высвобождению ЛВ, что приводит к нежелательной потере лекарств на стенках желудка. Комплексы с низкой степенью набухания будут длительное время сдерживать уровень ЛВ, способствуя терапевтической эффективности препарата. Предполагается, что комплексы с пектином подсолнечника будут проявлять кинетику постепенного высвобождения ЛВ в ЖКТ, что представляется важным при создании носителей ЛВ, стойких к действию желудочной кислоты.

Гидрогели на основе цитрусового пектина отличались высоким содержанием инкапсулированного РХ по сравнению с другими пектинами. Пониженная степень связывания РХ в микросферах с НМ-пектином подсолнечника, по сравнению с цитрусовым, связана с особенностями структуры полисахарида, не исключая энтальпийные факторы: высокая степень полидисперсности, высокое содержание звеньев галактуроновой кислоты. Как показала сравнительная оценка, по основным характеристикам: степень инкапсулирования ЛВ, степень набухания, механическая прочность, гидрогели с пектином подсолнечника несколько схожи с гидрогелями, полученными с яблочным пектином ЯП НМ-38.

Ранее было показано [7-10], что хотя выход микросфер на основе яблочного НМ-пектина заметно уменьшается с увеличением доли зеина в комплексе, в то же время количество инкапсулированного ЛВ

увеличивается. Однако, по сравнению с микросферами, полученными на основе ЦП НМ-9 и ЯП НМ-38 пектина, выход микросфер и содержание РХ у подсолнечного ПП НМ-47 пектина не зависит от количества зеина в комплексе. Эти отличия, как установлено, связаны с особенностями структуры полисахарида, способного формировать с ионами металла сшитые гидрогели и образовывать с зеином коацерваты, способные захватывать большее количество ЛВ.

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

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

Фармакокинетические испытания полученных СДЛ

Использование полученных гидрогелиевых микросфер на основе полисахаридов и гидрофобных белков в качестве СДЛ подтверждается следующими графическими материалами, на которых представлена кинетика высвобождения ЛВ из заявленных составах гидрогелей в опытах *in vitro*:

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

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

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

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

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

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

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

С увеличением зеина в составе полимерной композиции (З/П 1.5 и 2.0) диффузия ЛВ замедляется и только 20 вес. % РХ десорбируется за тот же промежуток времени, остальная часть из микросфер высвобождалась по линейному механизму. Несмотря на высокое содержание зеина, гидрогели не подвергались воздействию фермента, присутствующего в составе исследуемой среды [14]. При инкубации гидрогелиевых микросфер в фосфатном буфере рН 6.4, соответствующей среде толстого отдела кишечника, наблюдаются небольшие изменения только в начальном периоде времени и кинетические кривые имеют линейный характер, затем изменяются со временем. Количество высвободившегося ЛВ выше, чем при рН 1.2 и достигает 55-75% от общего количества адсорбированного ЛВ.

Для сравнительной оценки степени устойчивости комплексов была исследована кинетика выхода РХ из комплексов, полученных с ВМ- и НМ-яблочным пектинами. Кинетика выхода РХ их З/П комплексов с

высокомолекулярным ВМ-52 яблочным пектином представлена на рис.2. Степень высвобождения РХ из этих комплексов, образованных ионами Ca^{2+} , оказалась более линейной, чем с цитрусовым пектином. Хотя первые обладали меньшей способностью к насыщению лекарством, они сдерживали почти 95 вес % РХ в условиях верхнего ЖКТ. Следует отметить, что кинетика высвобождения РХ в данном случае зависела не от соотношения З/П, а от типа пектин-зеинового взаимодействия, в котором участвуют боковые гидрофобные остатки зеина и араби-ногалактуронана в составе пектиновых полисахаридов. Подобные гидрофобные системы способны препятствовать полной деградации наружной оболочки комплекса в течение периода тестирования [17].

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

Как мы и предполагали, из комплекса с высокой степенью набухания (З/КМЦ - 1.6:1) в первые 5 час. инкубации при $\text{pH}=1.2$ высвобождается 30% РХ, затем идёт постепенное высвобождение РХ, которое к 25 часам составило 45-50%. При повышении доли КМЦ (соотношение З/КМЦ 2.60 и 1.26) в условиях, моделирующих среду желудка, за тот же промежуток времени высвобождается только 10% РХ, с последующим постепенным высвобождением в течение всего периода инкубации в данной среде и, как видно на рис. 4, подчиняется кинетике нулевого порядка [8].

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

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

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

Таблица 3.

Физико-химические параметры зеин-пектиновых гидрогелевых микросфер в опытах *in vitro* и *ex vivo*.

Опыт	СДЛ	Содержание РХ в гидрогеле, мг/г	Степень набухания	$K_h 10^2, \text{ч}^{-1/2}$	R^2	n, (релиз экспонента)
In Vitro	З/ЯПНМ-38	204.0	6.70	16.6	0.996	0.56
Ex Vivo	З/ЯПНМ-38	158.0	7.22	6.00	0.980	0.61
In Vitro	З/ЦПНМ-09	139.0	16.00	31.0	0.990	0.22
Ex Vivo	З/ЦПНМ-09	120.0	13.72	4.90	0.986	0.21

Сравнивая время выхода ЛВ в опытах *in vitro* и *ex vivo*, можно наблюдать диффузионный транспорт ЛВ из гидрогелей, вследствие релаксационного механизма полимерной сетки (пектиновые участки), вызванного средой растворителя: если 50% РХ высвобождалось из микросфер на основе зеина и яблочного пектина в опытах *in vitro* за 35 ч, то время выхода РХ в опытах *ex vivo* достигало 48 ч. Для микросфер на основе зеина и цитрусового пектина оно составило 17 ч *in vitro* и 36 ч *ex vivo*, соответственно. Значительная протяженность во времени объясняется эффектом набухания ионогенной части полимерной сетки в хорошем (гидрофильный - буферный раствор, *in vitro*) и плохом (гидрофобный - смесь буферного раствора и содержимое кишечника, *ex vivo*) растворителях.

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

Подходящие биологически активные вещества для использования в настоящем изобретении также включают в себя противовоспалительные агенты, такие как гидрокортизон, преднизолон и тому подобное; антибактериальные агенты, такие как пенициллин, цефалоспорин, бацитрацин и тому подобное; противопаразитарные средства, такие как хлорохин, акрихин, и др; противогрибковые агенты, такие как нистатин, гентамицин и др; противовирусные средства, такие как ацикловир, рибавирин, интерферон и тому подобное; противоопухолевые средства, такие как метотрексат, антитела, фактор некроза опухоли и тому подобное; анальгетики, такие как салициловая кислота, ацетаминофен, ибупрофен, морфин и тому подобное; местные анестетики, такие как лидокаин, бупивакаин, бензокаин и

тому подобное; вакцины, таких как гепатит, корь, краснуха, столбняк, полиомиелит, бешенство и тому подобное; агенты центральной нервной системы, человеческий гормон роста, инсулиноподобный фактор роста икак; гормоны, такие как прогестерон, фолликулостимулирующий гормон, инсулин, соматотропин и тому подобное; антигистаминные препараты.

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

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Liu L.S., Kost J, Yan F. and Spiro R.S. Hydrogels from Biopolymer Hybrid for Biomedical, Food, and Functional Food Applications. *Polymers* 2012, 4, 997-1011; doi:10.3390/polym4020997.
2. Kumar R., Malviya R. and Sharma P.K. Pharmaceutical Applications and Patents in Natural Polymer Based Drug Delivery System. *Advances in Biological Research* 9 (1): 24-32, 2015. DOI: 10.5829/idosi.abr.2015.9.1.9226.
3. US 2003/0100739 A1. Method for producing cross-linked hyaluronic acid-protein bio-composites, publication data May 29, 2003.
4. WO2008067655 (A1). Biocompatible hydrogel-based scaffolds. CQ8B37/08; C08H1/06; C08J3/075. 2008-06-12.
5. Патент РФ 2467766. Пероральная система доставки лекарственных веществ в область кишечника. Опубл. 27.11.2012, Бюл. № 33. Авторы: Мустафин Р.И., Семина И.И., Буховец А.В. и др.
6. Viness Pillay, Michael P. Danckwerts and Reza Fassihi. Novel Modulation of Drug Delivery Using Binary Zinc-Alginate-Pectinate Polyspheres for Zero-Order Kinetics Over Several Days Experimental Design Strategy to Elucidate the Crosslinking Mechanism. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 31:191–207, 2005
7. Мухидинов З.К., Касимова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т., Насриддинов А.С., и др. Гидрогелиевые микросферы на основе биоразрушающих полимеров, как носители лекарственных средств – Изв. АН РТ. Отд. физ-мат., хим., геол. и техн.н., 2009, №1 (134), с. 59-65.
8. Джулиева Г.Х., Махкамов К.Х., Мухидинов З.К., Композиция на основе карбоксиметилцеллюлозы и зеина как носитель лекарственных веществ. Докл. АН том. 52, №11, 2009, ст.868-872.
9. Мухидинов З.К., Касимова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т., Тешаев Х.И., Халиков Д.Х., Луи Л.Ш. Пектин-зеиновые микросферы как носители лекарственных средств - Химико-фармацевтический журнал, 2010, т.44, №10, с.35-39.
10. Muhidinov Z.K., Teshaev Kh.I., Kasimova G. F., Nasriddinov A.S., Liu L.S. Pectin-Zein Hydrogels for delivery of Drugs and Nutrients - In: *Gum and Stabilizers for the Food Industry 16*, RSC publishing, ed. P.A. Williams and G.O. Fillips, (2012), pp. 401-406.
11. Касимова Г.Ф., Мухидинов З.К., Джонмуродов А.С., Луи Л.Ш.. Сравнительное исследование формирования гидрогелевых микросфер на

основе различных пектинов и зеина кукурузы с модельным лекарством. Докл. АН РТ. 2013, т.56, №5, с.399-405

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

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

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

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

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

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

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

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

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ формирования гидрогелевых микросфер для создания систем доставки лекарственных веществ (СДЛ) в виде гидрогелиевых микросфер на основе биополимеров, приготовление биосовместимых гидрогелиевых микросфер из карбоксилсодержащих полисахаридов, состоящих из пектина, альгината, гиалуроновой кислоты, производных целлюлозы и их смесей в присутствии ионов многовалентных металлов, **отличающийся тем, что** получают микропористые композиции поперечно-сшитых полианионов в присутствии минеральных ионов с включением гидрофобных белков, в которые может быть введено более 50 мас.% водорастворимого и нерастворимого биологически активного вещества и из которого он может высвобождаться контролируемым образом в кишечном пространстве.

1. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в качестве полианиона используются низкометилированные (НМ)-пектины;

2. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в качестве полианиона используются водорастворимые эфиры целлюлозы;

3. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в качестве гидрофобного белка в систему вводится зеин из кукурузы;

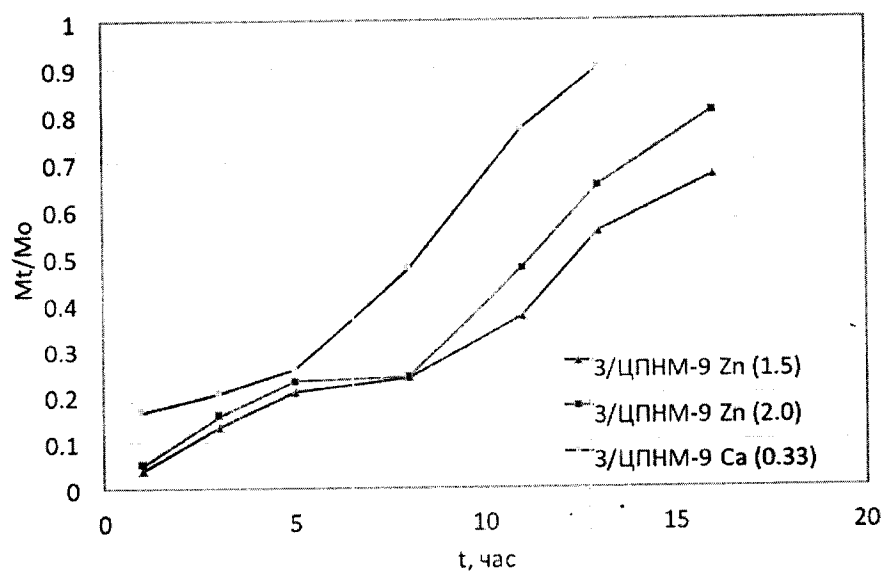
4. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в качестве гидрофобного белка в систему вводится любой гидрофобный белок.

5. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в качестве ионов металла включают кальций.

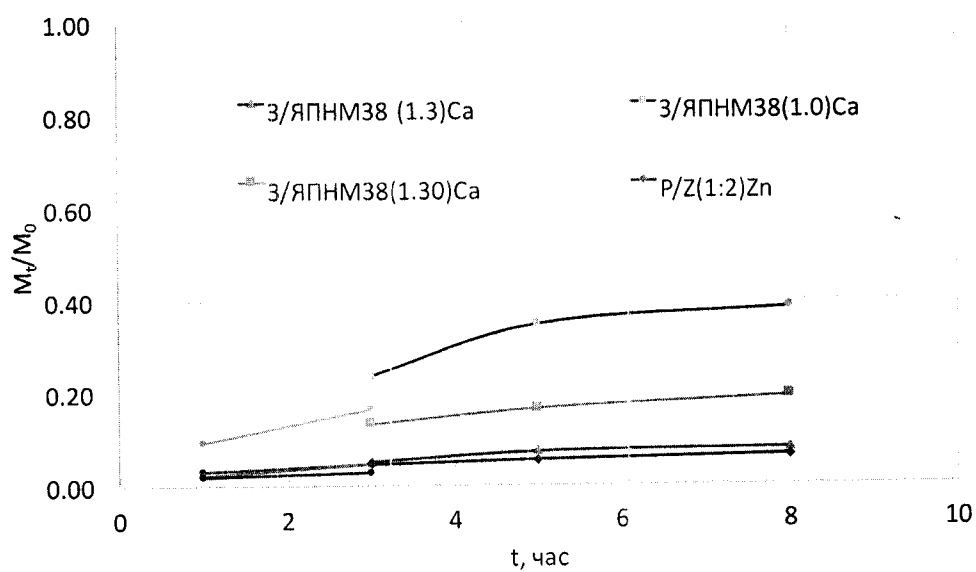
6. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в качестве ионов металла включают цинк.

7. Способ по пункту 1, **отличающийся тем, что** в СДЛ могут быть введены противовоспалительные, антибактериальные, противопаразитарные, противогрибковые, противоопухолевые агенты, а также вакцины и гормоны.

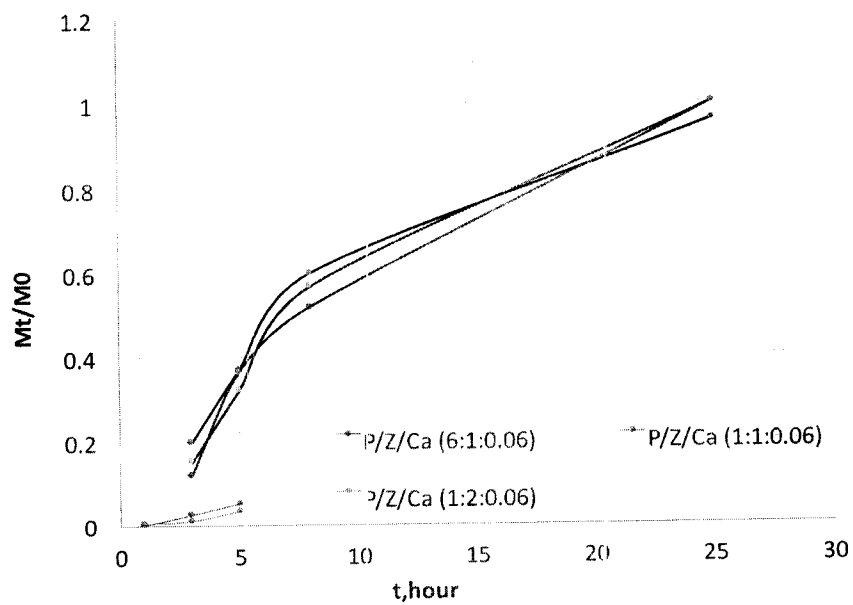
Способ формирования гидрогелиевых микросфер для создания систем доставки лекарственных веществ



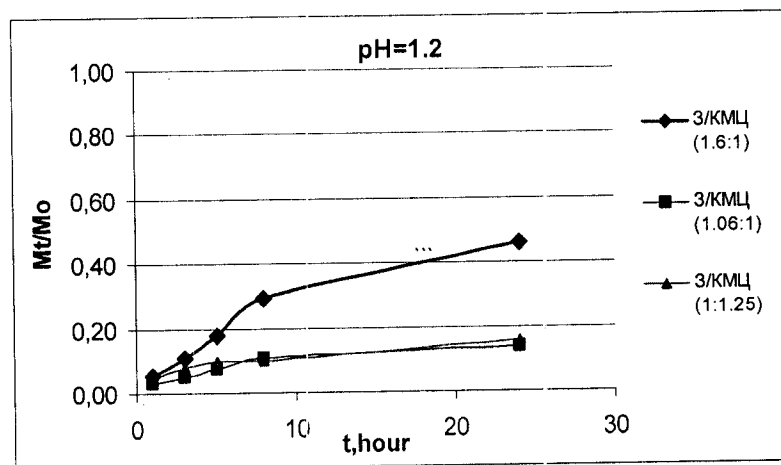
Фиг. 1



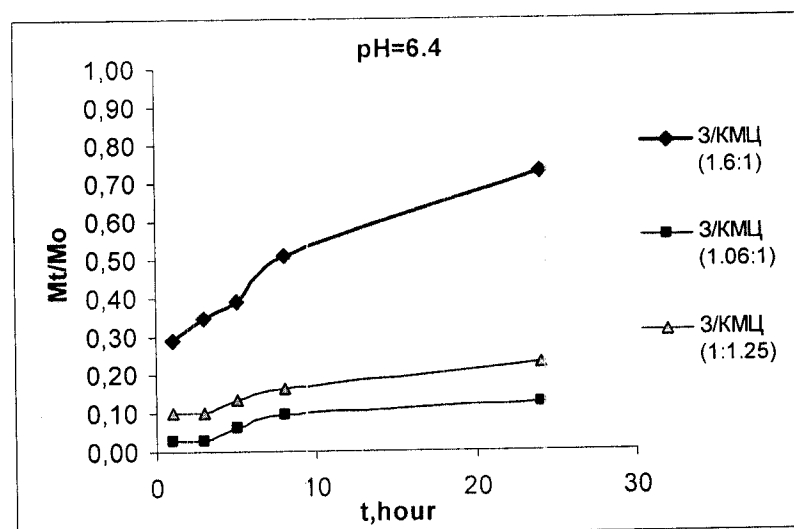
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ
ПОИСКЕ**
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42
Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:
201900027

Дата подачи: 08 ноября 2018 (08.11.2018) Дата испрашиваемого приоритета: 05 октября 2018 (05.10.2018)

Название изобретения: СПОСОБ ФОРМИРОВАНИЯ ГИДРОГЕЛЕВЫХ МИКРОСФЕР ДЛЯ СОЗДАНИЯ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Заявитель: ИНСТИТУТ ХИМИИ ИМ. В.И. НИКИТИНА АКАДЕМИИ НАУК РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН

☐ Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа)

☐ Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа)

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

МПК:	A61K 9/14	(2006.01)	СПК:	A61K 9/14	(2013-01)
	A61K 47/36	(2006.01)		A61K 47/36	(2017-08)
	A61K 47/38	(2006.01)		A61K 47/38	(2013-01)
	A61K 47/02	(2006.01)		A61K 47/02	(2013-01)
	A61K 47/42	(2006.01)		A61K 47/42	(2017-08)

Согласно Международной патентной классификации (МПК) или национальной классификации и МПК

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК)

A61K 31/00, 9/14, 47/36, 47/38, 47/02, 47/42

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска:

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	US 2004/0220081 A1 (SPHERICS, INC.) 04.11.2004, абзацы [0042], [0048],	1, 3-8
Y	[0055], [0090], [0091], [0100], [0102], [0107], п. 28 формулы, примеры	2
Y	WO 1997/40679 A1 (IMARX PHARMACEUTICAL CORP.) 06.11.1997, с. 31, абзац 1	2
A	WO 2009/073193 A2 (THE JOHN HOPKINS UNIVERSITY) 11.06.2009	1-8
A	US 2003/0232895 A1 (HOSSEIN OMIDIAN et al.) 18.12.2003	1-8
A	RU 2618329 C2 (ДЖЕЛЕЗИС ЛЛС) 03.05.2017	1-8

☐ последующие документы указаны в продолжении графы В

☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении

* Особые категории ссылочных документов:

"А" документ, определяющий общий уровень техники

"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета

"D" документ, приведенный в евразийской заявке

"I" более поздний документ, опубликованный после даты

приоритета и приведенный для понимания изобретения

"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

"У" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

"&" документ, являющийся патентом-аналогом

"L" документ, приведенный в других целях

Дата действительного завершения патентного поиска: 03 июля 2019 (03.07.2019)

Наименование и адрес Международного поискового органа:

Федеральный институт

промышленной собственности

РФ, 125993, Москва, Г-59, ГСП-3, Бережковская наб., д. 39-1. Факс: (499) 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо :



Т. Ф. Владимирова

Телефон № (499) 240-25-91