

Министерство образования и науки Республики Казахстан

Инновационный Евразийский университет

КАРИМОВ РУСЛАН АМАНТАЕВИЧ

**РАЗРАБОТКА ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА С
УЛУЧШЕННОЙ БИОДОСТУПНОСТЬЮ**

специальность 6М070100 «Биотехнология»

Диссертация на соискание академической степени магистра биотехнологии

Научный руководитель :
Доктор ветеринарных наук ,
Профессор

Л.И. Проскурина

Павлодар, 2013

ИННОВАЦИОННЫЙ ЕВРАЗИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

МАГИСТРАТУРА

Кафедра «Прикладная биотехнология»

Допущен к защите

Зав.кафедрой «Прикладная биотехнология»

Профессор _____ Л.И. Проскурина

Магистерская диссертация

6М070100 «Биотехнология»

**РАЗРАБОТКА ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА С
УЛУЧШЕННОЙ БИОДОСТУПНОСТЬЮ**

Исполнитель _____ Р.А.Каримов

Научный руководитель,

профессор _____ Л.И.Проскурина

Реферат

Объем диссертации составляет 111 страниц.

Структура диссертации включает следующие разделы: нормативные ссылки, определения, обозначения и сокращения, введение, литературный обзор, методы и объекты исследований, экспериментальные исследования, разработка заключения, список использованных источников,

Количество иллюстраций 18 таблиц 10, использованных литературных источников 23

Ключевые слова: биофармация, биодоступность, биотрансформация, фармакокинетика,

Актуальность исследований. Важнейшей стратегической задачей нашего общества является борьба с социально опасным заболеванием туберкулез и создание противотуберкулезного препарата является очень важной задачей в отечественной фармацевтике.

В настоящее время в научных кругах возрос интерес к молекулярному инкапсулированию лекарственных субстанций циклодекстринами (ЦД), в связи с тем, что циклодекстрины способствуют увеличению биодоступности действующих веществ, снижению вредного воздействия на микрофлору желудочно-кишечного тракта, пролонгации действия, исключают взаимодействия несовместимых компонентов в комбинированных препаратах, и защищают нестабильные вещества от воздействия света, влаги

В связи с этим актуальными в настоящее время, являются исследования по разработке лекарственных препаратов с циклодекстринами

Научная новизна

Впервые выявлено, что молекулярное инкапсулирование позволяет осуществить включение комплексов циклодекстрина с рифампицином в соотношении 1:1. Результаты позволяют определить профиль высвобождения рифампицина в нескольких средах.

Практическая значимость

Тематика разработки противотуберкулезных препаратов отечественного производства актуальна, так как туберкулез все ещё является большой социальной проблемой, а производство противотуберкулезных препаратов в РК незначительно.

Таким образом, наша работа по применению рифампицина позволяет исследовать его высвобождение необходимое организму для терапевтического эффекта.

Цель исследований. Исследовать комплексообразование рифампицина с циклодекстрином и разработать противотуберкулезный препарат на основе рифампицина

Объект исследований: рифампицин – ГФ РК 2 том

СОДЕРЖАНИЕ

Нормативные ссылки.....	
Определения, обозначения и сокращения.....	
Введение.....	
1 Литературный обзор.....	
1.1 Этиология туберкулеза.....	
1.2 Патогенез туберкулеза.....	
1.3 Эпидемиологическая модель туберкулеза.....	
1.4 Культивирование M.Tuberculosis	
1.5 Стратегия разработки новых препаратов.....	
1.6 Классификация лекарственных сред.....	
1.7 Циклодекстрины	
1.7.1 Циклодекстрины в фармацевтике	
1.8 Биофармация.....	
1.9 Элементы фармакокинетики...	
1.10 Биотрансформация	
1.11 Биодоступность	
1.12 Основные понятия и классификация лекарственных форм	
1.13. Вспомогательные вещества.....	
2 Экспериментальная часть	
2.1 Мониторинг исследования туберкулеза в Казахстане	
Объекты и методы исследований.....	
2.1.1 Объекты исследований.....	
2.1.2. Методы исследований.....	
2.3 Изучение комплексообразования с циклодекстринами	
3. Разработка рецептуры и технологии производства противотуберкулезного препарата	
Выводы.....	
Список использованных источников.....	

.....

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

Государственная Фармакопея Республики Казахстан 1 том

Государственная фармакопея Республики Казахстан 2 том

Европейская фармакопея 7 издание, 2009 г.

Американская фармакопея формуляр 2

Фармакопейная статья Рифампицин ФС РК

Фармакопейная статья Изониазид ФС РК

ГОСТ 12026 – 76 «Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия»

ГОСТ 14919-83 «Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия»

ГОСТ 16317-87 «Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия»

ГОСТ 5962-67 «Спирт этиловый ректификованный. Технические условия»

ГОСТ 6709 – 72 «Вода дистиллированная. Технические условия»

ТУ 64-1-38-49-84 «Весы сыпучих материалов ВСМ»

ТУ 9452-010-00141798-2002 «Шкаф сушильный»

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

1. В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями:

Биофармация - раздел фармацевтической науки, которая изучает зависимость действия лекарственных препаратов, которая изучает зависимость действия лекарственных препаратов от фармацевтических факторов, влияющих на терапевтическую эффективность

Биодоступность характеристика лекарственных препаратов, описывающая способность действующего начала (лекарственного вещества) доходить до места его действия в неизменном виде и определяющая выбор оптимальной дозировки.

-*Биотрансформация*- Метаболизм (изменение) – это сумма химических превращений, которые претерпевает лекарственное вещество в организме

- Лекарственная форма – это придаваемое лекарственному средству удобное для применения состояние (порошок, раствор, мазь, таблетки, капсулы), при которых достигается необходимый лечебный эффект

Лекарственный препарат – это лекарственная форма необходимая для достижения терапевтических эффектов

Фармакокинетика - область науки, изучающая движение лекарств в организме.

Циклодекстрины - углеводы, циклические олигомеры глюкозы, получаемые ферментативным путём из крахмала

Элиминация - период выведения лекарственного препарат из организма

2. В настоящей диссертации применяют следующие обозначения единиц измерений:

°С; ; %; ч; с; мин; ; г; мкг; г/л; мг%, ; мм; мкм; моль,;

3. В настоящей диссертации применяют следующие сокращения:

АФИ- активный фармацевтический ингредиент

ВОЗ- Всемирная организация

ГОСТ - государственный отраслевой стандарт;

ЛС- Лекарственное средство

ЛВ- Лекарственне вещество

ПТП- противотуберкулезный препарат

ЦД-циклодеквстрины

ТИ - техническая инструкция;

M.Tuberculosis-Mycobacterium tuberculosis

Введение

Актуальность проблемы

Туберкулез является острой проблемой современного мирового сообщества, и сегодня признан Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как заболевание, требующее разработки и внедрения активных и безотлагательных действий по предупреждению распространения в мире.

Туберкулез, как инфекционная болезнь, идет в ногу с ВИЧ/СПИДом, который резко подавляя иммунитет, открывает путь туберкулезным бактериям.

Нарастание эпидемии туберкулеза, происходящее на протяжении последнего десятилетия в XX в. не только в нашей стране, но и во многих странах мира, стало закономерным следствием не только социально-экономических потрясений, распространением новых мировых инфекций, прежде всего ВИЧ-инфекции, но и изменением самого возбудителя [1].

Насущной необходимостью стало обновление знаний о туберкулезе, прежде всего у клиницистов и исследователей в области биологии и медицины. Революционные достижения молекулярной биологии и генетики, произошедшие за последнее десятилетие, позволили по новому представить важные закономерности развития этого заболевания и наметить принципиально новые пути его предупреждения и лечения [1].

В наши дни, как и в прошлые века, туберкулез во всем мире остается ведущей причиной смерти среди всех инфекционных заболеваний. Примерно треть населения нашей планеты инфицирована микобактериями туберкулеза и подвержена опасности развития этого заболевания. Ежегодно в мире от туберкулеза умирают около 3 млн. человек, а в развивающихся странах один из каждый 5 случаев смерти связан с туберкулезом. Но в развитых странах туберкулез вновь стал серьезной проблемой. В современном мире, с его глобальной взаимозаменяемостью, быстротой перемещений, с развитой торговлей и с меняющимися социально-культурными условиями, туберкулез представляет угрозу для населения любой другой страны [1].

Глобальное возрастание туберкулеза в наши дни обусловлено несколькими факторами. Главным из них стало нарушение иммунных механизмов у лиц, инфицированных вирусом иммунодефицита человека. Это способствовало реактивации старых туберкулезных очагов или же делало таких лиц особо восприимчивыми к заражению туберкулезом. Другими факторами стали социальные конфликты, бедность, перенаселенность и недостаточное финансирование ультраструктуры общественного здравоохранения. Особенно зловещим стало возрастание полирезистентности туберкулеза [1].

В плане глобальной перспективы туберкулез представляется проблемой чрезвычайного значения. Без самых энергетичных вмешательств ситуация с этой инфекцией в мире будет быстро ухудшаться. В течении ближайшего десятилетия около 90 млн. человек заболеют туберкулезом и 30 млн. умрут от него. Это заболевание в настоящее время – ведущая причина смерти среди всех инфекций [1].

Также по данным ВОЗ, в некоторых районах мира у каждого четвертого человека с туберкулезом (ТБ) развивается форма болезни, которая не поддается стандартному продолжительному лечению противотуберкулезными препаратами первой линии. В настоящее время в Казахстане также наблюдается высокий уровень заболеваемости туберкулезом с приобретенной лекарственной устойчивостью и разработка лекарственных препаратов в Казахстане является важной задачей для защиты нашего общества, а кроме того позволяет Казахстану не ориентироваться на западный рынок фармацевтической продукции [2].

Одной из причин, способствующих развитию приобретенной лекарственной устойчивости, является нарушение режима или прерывание пациентами лечения, в связи с высокой токсичностью противотуберкулезных препаратов (ПТП). Поэтому вопросы повышения эффективности противотуберкулезной терапии являются актуальными и насущными [3].

В последние годы в научных кругах возрос интерес к молекулярному инкапсулированию лекарственных субстанций циклодекстринами (ЦД), в связи с тем, что циклодекстрины способствуют увеличению биодоступности действующих веществ, снижению вредного воздействия на микрофлору желудочно-кишечного тракта, пролонгации действия, исключают взаимодействия несовместимых компонентов в комбинированных препаратах, и защищают нестабильные вещества от воздействия света, влаги [4].

Молекулярное инкапсулирование действующих веществ с циклодекстринами имеет хорошие перспективы для создания инновационных дженериков, в том числе противотуберкулезных препаратов. Это и предопределило задачи нашей работы, разрабатывать противотуберкулезный препарат на основе молекулярного инкапсулирования и определить подходящую рецептуру и технологическую схему разработки лекарственного препарата [4].

Научная новизна

Впервые выявлено, что молекулярное инкапсулирование позволяет осуществить включение комплексов циклодекстрина с рифампицином в соотношении 1:1. Результаты позволяют определить профиль высвобождения рифампицина в нескольких средах.

Практическая значимость

Тематика разработки противотуберкулезных препаратов отечественного производства актуальна, так как туберкулез все ещё является большой социальной проблемой, а производство противотуберкулезных препаратов в РК незначительно.

Таким образом, наша работа по применению рифампицина позволяет исследовать его высвобождение необходимое организму для терапевтического эффекта.

Цель работы - разработать противотуберкулезный препарат с повышенной биодоступностью.

В связи с поставленной целью были определены следующие задачи:

- провести мониторинг распространения туберкулеза в Павлодарской области и Республике Казахстан в целом;
- изучить комплексообразование β - циклодекстрина с рифампицином;
- разработать технологический процесс производства противотуберкулезного препарата с повышенной биодоступностью и улучшенной растворимостью на примере рифампицина;
- сделать сравнение профилей растворения тестируемого препарата с аналогом субстанций от другого производителя.

1 Обзор литературы

1.1 Этиология туберкулеза и ранняя история туберкулеза

M.tuberculosis (палочка Коха) — вид микобактерий, вызывающий туберкулёз у человека в 92% случаев. Возбудитель был открыт в 1882 г. Робертом Кохом [1].

Микобактерии туберкулёза — тонкие, прямые или незначительно изогнутые неспорообразующие палочки длиной 1-10 мкм, шириной 0,2 - 0,6 мкм, гомогенные или зернистые, со слегка закруглёнными концами. Их относят к облигатным аэробам, факультативным внутриклеточным паразитам [5].

M.tuberculosis способны размножаться как в макрофагах, так и внеклеточно в тканях. Естественный резервуар этого возбудителя — человек. Из животных особенно чувствительны к нему морские свинки, с их помощью проводят биологическую пробу на туберкулёз (животному вводят подозрительный на туберкулёз материал). Основные носители антигенных свойств *M.tuberculosis* — белки, проявляющие специфичность в реакциях гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Размножаются медленно (одно деление за 12-20 ч), на плотных средах растут в виде светло-кремового морщинистого или суховатого чешуйчатого налёта. Под влиянием антибактериальных средств *M.tuberculosis* всё чаще приобретает лекарственную устойчивость [1].

В эпоху палеолита люди вели кочевой образ жизни, не создавали постоянных и больших сообществ. Заболевания туберкулезом, подобно другим инфекциям, были спорадическими, и не приобретали характера эпидемий [6].

По прошествии веков и тысячелетий люди начали создавать все более крупные сообщества, а это изменило не только условия жизни, но и хрупкий баланс между человеком и возбудителем туберкулеза. Продолжительность жизни патогенного возбудителя обычно гораздо короче жизни хозяина. Это дает большие преимущества микроорганизмам, мутации которых в ответ на неблагоприятные внешние воздействия происходят несравненно чаще, чем у хозяина. В результате подобных соотношений, имеющих место при туберкулезе, человек на протяжении своей жизни не может приспособиться к инфекции столь же быстро, как возбудитель к изменившимся условиям. Благодаря данному начальному преимуществу инфекция начинает устранять из коллектива восприимчивых к ней особей, прежде чем последние успевают передать свои гены потомству. Следующие поколения, происходящие от выживших особей, характеризуются повышенной устойчивостью, к данному возбудителю. Таким образом, со временем уменьшается, и исчезает начальное преимущество возбудителя, утрачивающего при смене поколений роль

угрожающего жизни фактора. Он уже не вызывает столь опустошительных последствий [6]. Туберкулез на раннем этапе истории человечества, вполне вероятно был редким спорадическим заболеванием. Эпидемии стали возникать в последующем по мере увеличения плотности населения.

При этом распространенность инфекции была неравномерной: она поражала разные регионы мира в разные периоды времени. Эпидемии туберкулеза начались по всему земному шару в результате перемещения больных (европейцев) и колонизации отдаленных стран. В 18 в. и в начале 19 в. распространение туберкулеза достигло пика в Западной Европе и США. Даже теперь, спустя 100-200 лет, туберкулез расцветает бурным цветом в Азии, Африке, Южной Америке [5].

Клинические проявления туберкулеза варьируют в зависимости от значительного числа факторов. Заражение *M.tuberculosis* остается бессимптомным у подавляющего большинства здоровых людей. Результаты самых различных исследований подтверждают, что риск развития клинически выраженного туберкулеза на протяжении всей жизни у заразившегося человека не превышает 10 %, а во всех остальных 90 % случаев инфекция остается бессимптомной и латентной. Только положительные кожные реакции на туберкулин свидетельствуют о данной латентной инфекции [6].

Специфические группы населения, например лица с иммунодефицитом и дети, подвержены гораздо более высокому риску заболевания. Иммунизация вакциной БЦЖ снижает опасность развития распространенных форм туберкулеза у лиц с сохраненным иммунитетом, особенно у детей. Помимо факторов со стороны хозяина, существенное влияние на течение болезни и ее исход оказывает специфика самого возбудителя, его вирулентность, и сродство с определенными тканями [6].

Таблица 1 - Факторы, влияющие на клинические проявления туберкулеза.

Факторы хозяина	Микробные факторы	Взаимодействие хозяин-микроб
Возраст Иммунный статус Специфический иммунодефицит Нарушения питания Генетические факторы Сопутствующие заболевания Иммунизация вакциной БЦЖ	Вирулентность микроорганизма Предрасположенность (тропизм)к определенным тканям	Место заражения Тяжесть заболевания

Наиболее очевидный и важный момент, влияющий на клиническую симптоматику туберкулеза, - локализация патологического процесса. До начала современной эпидемии СПИДа около 85 % всех случаев туберкулеза проявлялись в поражении легких, и лишь оставшиеся 15 % касались внелегочных его локализаций и сочетанного легочного и внелегочного поражения. Множественная локализация туберкулезных поражений у ВИЧ-инфицированных больных типична и для больных с нарушениями иммунитета.

Диагноз туберкулеза в настоящее время принято считать точно установленным лишь при обнаружении микобактерий туберкулеза методом посева. В клинике за последнее время стал доступным и специфическим тест на ДНК *M.tuberculosis*. При поражении легких мокрота служит наиболее подходящим материалом для поисков возбудителя. Именно мокроту следует собирать, и исследовать при поступлении пациента. Наиболее информативные результаты дает исследование мокроты, собранной в ранние утренние часы : такой материал менее загрязнен сопутствующей микрофлорой и чаще позволяет выделить *M.tuberculosis*. Информативность бактериологического метода возрастает по мере увеличения кратности исследований. Правда, число положительных ответов не нарастает после пяти проведенных подряд бактериологических исследований, при этом дополнительная информация четвертого и пятого оказывается минимальной [7].

Существует несколько способов получения материала у больных, не выделяющих мокроту. Первый и наиболее распространенный из них заключается в ингаляциях аэрозолей раствора соли. Исследования промывных вод желудка дает достоверные результаты реже, чем индуцированная мокрота, да и сам процесс их получения, связанный с введением назогастральной трубки, нередко дает осложнения, и неприятен для больного. Однако у детей и реже у взрослых промывные воды желудка могут оказаться единственным доступным для исследования материалом [7].

В определенных ситуациях противотуберкулезную терапию необходимо назначать до проведения инвазивных методов диагностики. Явное улучшение состояния пациента и положительная динамика рентгенологически выявляемых изменений служат серьезным доводом в пользу туберкулезной этиологии заболевания и оправдывают продолжение химиотерапии в течении 3 месяцев.

Понимание этиологии и динамики распространения большинства инфекций требует четкого разграничения понятий инфекции и заболевания. Заболевание представляет собой как бы верхушку айсберга над общим уровнем инфицированности населения, поэтому факторы, влияющие на инфицирование, могут существенно отличаться от факторов, определяющих либо бессимптомное присутствие инфекции, либо развитие клинически выраженного

заболевания. Подобное различие малосущественно при заболеваниях типа кори, когда инфицирование почти всегда приводит к заболеванию.

Длительное и латентное персистирование *M.tuberculosis* в организме человека подтверждается возможностью реактивации подобной инфекции многие годы спустя после первоначального заражения. Подобная способность возбудителя туберкулеза к многолетнему персистированию служит важным препятствием в искоренении этой инфекции из жизни общества [7].

1.2 Патогенез туберкулеза

Основные пути проникновения *M. tuberculosis* — аэрогенный (основной), но возможен алиментарный и весьма редко контактный, через поврежденную кожу или слизистые оболочки. Определенную защитную роль при аэрогенном заражении играет система мукоцилиарного клиренса, позволяющая частично вывести попавшие в бронхи частицы пыли, капельки слизи, слюны, мокроты, содержащие микроорганизмы. При энтеральном заражении может иметь значение всасывающая функция кишечника. [8]

Этапы патогенеза

I. Возникновение заболевания

Первый этап начинается после ингаляции *M. tuberculosis* в альвеолы. Там происходит их захват макрофагами нередко полное разрушение. Подобное разрушение зависит от врожденной микобактерицидной способности альвеолярных макрофагов, так и от генетически и фенотипически обусловленной вирулентности микобактерий.

Альвеолярные макрофаги представляют собой клетки, способные к неспецифической активации под воздействием разных ингалированных частиц, в том числе любых стимуляторов мононуклеарных фагоцитов. Следовательно, бактерицидная способность альвеолярных макрофагов существует и перед попаданием *M. tuberculosis* в альвеолы. Механизмы антигенной стимуляции клеток. Активирующихся макрофаги на этом этапе еще не участвуют в деструкции ингалированных микобактерий. В альвеолы могут проникнуть достаточно мелкие частицы, содержащие не более трех микобактерий. Столь небольшое число *M. tuberculosis* не способно инициировать развитие ни первичных, ни вторичных иммунных реакций. Среднее число ингалируемых частиц, содержащих от одной до трех микобактерий и способных вызывать заболевание у человека, остается неизвестным. Принято считать, что это число варьирует от 10 до 50, но развитие инфекции зависит также от вирулентности возбудителя и сопротивляемости реципиента [8].

Сопротивляемость возникновению туберкулезной инфекции в определенной степени обусловлена генетически, так как альвеолярные

макрофаги у некоторых индивидуумов оказываются более активными, чем у других. Тот факт, что у лиц негроидной расы вираж туберкулиновых проб после экспозиции с туберкулезом в идентичных условиях происходит чаще, чем у европеоидов, указывают на меньшую способность альвеолярных макрофагов негров разрушать ингалированные *M. tuberculosis*.

II. Симбиоз

Если альвеолярные макрофаги не в состоянии разрушить или ингибировать развитие ингалированных микобактерий, то дальнейшее размножение последних приводит к гибели этих макрофагов или их потомков. Высвободившиеся при этом возбудители вновь поглощаются другими альвеолярными макрофагами, а также еще другими неактивированными макрофагами, вышедшими из тока крови. Оба типа этих макрофагов привлекаются этим зонам воздействия со стороны самих бактерий. Последующая судьба ранних поражений полностью переходит в ведение макрофагов из общей циркуляции. Альвеолярные макрофаги уже почти не принимают участия в борьбе с инфекцией, поскольку оказываются на периферии, вдали от расположения микобактерий, локализующихся в центре возникновения формирований.

Вновь привлеченные из тока крови еще недостаточно зрелые макрофаги быстро поглощают высвободившиеся микобактерии. При этом формируется состояние симбиоза, когда ни макрофаги хозяина, ни содержащиеся в них возбудители не в состоянии устранить друг друга. Стадия симбиоза продолжается от 7 до 21 дня после инфицирования и характеризуется логарифмическим ростом численности микобактериальной популяции как у восприимчивых, так и у резистентных к туберкулезу организмов. Представляется очевидным, что внутриклеточно расположенные микобактерии не стимулируют защитных реакций со стороны незрелых макрофагов хозяина.

По данным гистологических исследований, макрофаги в участках поражения у восприимчивого к туберкулезу макроорганизма содержат более значительные количества видимых микобактерий и располагаются преимущественно интраальвеолярно. Макрофаги в участках воспаления у резистентных к туберкулезу кроликов содержат меньшие количества *M. tuberculosis*, и локализуются преимущественно интерстициально, а именно в стенках альвеол [8].

Правда, на данной симбиотической стадии указанные гистологические различия не влияют на скорость размножения микобактерий. Вновь привлекаемые макрофаги оказывают одинаковое незначительное влияние на размножение макрофагов в своей цитоплазме у кроликов как чувствительных, так и резистентных к туберкулезу линий. Участки воспаления в интерстиции

резистентных к туберкулезу линий кроликов содержат несколько большие количества Т-лимфоцитов. Данные лимфоциты играют важную роль в иммунных реакциях, которые завершают второй этап развития заболевания.

Достигшие альвеол микобактерии поглощаются макрофагами, внутри которых происходит быстрое размножение возбудителя. При локальном первичном инфицировании (в отсутствии иммунитета) в течение первой недели 50% макрофагов содержит микобактерии туберкулёза, при повторном инфицировании (при наличии иммунитета) большинство бактерий быстро разрушается. Микобактерии туберкулёза содержат только 3% макрофагов [8].

Являясь факультативным внутриклеточным паразитом, *M. tuberculosis* находится преимущественно в фагосомах макрофагов. Это происходит ещё и потому, что микобактерия туберкулёза способна вырабатывать фермент, ингибирующий слияние фагосомы с лизосомами. Из макрофагов микобактерии выходят в лимфатические сосуды, дренирующие лёгкие, и образуют отдельные фокусы в ипсилатеральных лимфатических узлах корня лёгкого. Из них возбудители проникают в грудной проток, и могут далее распространяться по кровотоку в различные органы. Фаза бактериемии бессимптомна. Однако через 2-6 нед. у инфицированного человека развивается гиперчувствительность к возбудителю туберкулёза, приводящая к гранулематозному воспалительному ответу в очагах расположения возбудителя.

Иммунитет при туберкулёзе бывает нестерильным, клеточным, опосредованным Т-лимфоцитами. В благоприятных условиях иммунитет формируется через 4-8 нед. после инфицирования или БЦЖ-вакцинации и отражает наличие клона обученных Т-лимфоцитов. Специфичная для туберкулёза морфологическая реакция (очаг продуктивного воспаления) — туберкулёзная гранулёма (бугорок, туберкул), в центре которой расположен участок творожистого некроза (казеоза), окружённого эпителиоидными и гигантскими (многоядерными) клетками Пирогова-Лангханса. При возникновении заболевания вследствие первой встречи с *M. tuberculosis* формируется первичный туберкулез (7-10% инфицированных), характеризующийся сначала лимфотропностью, несовершенством иммунного ответа, параспецифическими и обширными перифокальными реакциями, склонностью к генерализации процесса, а в последующем, при формировании иммунитета, возможностью самоизлечения. У лиц, никогда ранее не состоявших на учёте у фтизиатра, при очередном рентгенологическом исследовании может быть обнаружен очаг — обызвествлённый лёгочный компонент первичного туберкулёзного комплекса, не имеющий эпидемиологического значения [8].

После первичного туберкулёза может возникнуть диссеминированный туберкулез (гематогенное и лимфогенное распространение), тогда в лёгких

обнаруживают очаги продуктивного воспаления. При повторной встрече с *M. tuberculosis* (экзогенная реактивация старых очагов или экзогенная суперинфекция из другого источника), формируется вторичный туберкулёз, носящий органнй характер (чаще — лёгкие) и проявляющийся образованием очага, инфильтрата или каверны без вовлечения в процесс лимфатических узлов.

В принципе риск заражения *M. tuberculosis* существует при дыхании. Концепция о присутствии в воздухе достаточного количества микробов для того, чтобы вызвать заражение и заболевание, встречала возражения вплоть до середины XX в.

Частицы продуцируются при кашле, чихании и даже просто при разговоре. Подобные частицы образуют капельные ядрышки, жидкое содержимое которых испаряется при атмосферном давлении. Такие образования весьма стабильны, оседают крайне медленно и остаются взвешенными в воздухе долгое время. Каждое из капельных ядрышек может содержать от 3 до 10 микобактерий туберкулеза. Пылевые частицы также содержат возбудителей. Они гораздо крупнее капельных ядрышек, но могут повторно вздыматься в воздух, при конвекции и быть распространителями туберкулеза. Заражение возможно и при алиментарном проникновении *M. tuberculosis*, но вероятность развития заболевания при этом заражения в 10000 раз меньше, чем при аэрогенном инфицировании, так как возбудители весьма чувствительны к кислой среде желудка. Количество и концентрация *M. tuberculosis* продуцируемых источником инфекции варьируют от 10^2 до 10^4 . Значительная вариабельность в трансмиссии инфекции определяется продолжительностью экспозиции и аэродинамическими особенностями выдыхаемых частиц. Большое число лиц, продолжительное время работающих в постоянном контакте с больными туберкулезом, могут оставаться неинфицированными, но имеют убедительные примеры заражения сотен людей при одном единственном контакте с источником инфекции [8].

1.3 Эпидемиологическая модель туберкулеза

Степень распространения туберкулеза в популяции определяется следующими тремя факторами: заболеваниями лиц, инфицированных *M. tuberculosis* в данный промежуток времени; развитием болезни у лиц, инфицированных незадолго до учитываемого промежутка времени, и числом заболевших через многие годы после инфицирования в результате реакции латентной инфекции [9].

Эпидемиологические исследования направлены на изучение этих факторов риска и на идентификацию моментов, влияющих на их

сравнительную значимость, с целью установления наиболее эффективных методов воздействия для благоприятных изменений эпидемиологической ситуации [1].

Туберкулез в настоящее время – наиболее тяжелая проблема для развивающихся стран, но еще совсем недавно он был одной из главных причин смертности населения стран, в настоящее время относимых к развитым. Соответственно эпидемиология туберкулеза была предметом интенсивного исследований, и большинство современных знаний по данной проблеме, получено из опыта развитых стран. Вопрос о возможной экстраполяции этого опыта, на современные условия в странах с большим распространением туберкулеза остается, по меньшей мере в некоторых отношениях открытым. Однако представляется разумным исходить из положения о том, что общие эпидемиологические закономерности в обеих ситуациях одинаковы, пока не будут получены опровержения этого постулата. Наряду с этим следует подчеркнуть необходимость в безотлагательном проведении хорошо спланированных эпидемиологических исследований по туберкулезу в странах с наиболее значительным его распространением [1,2].

Эпидемиологию туберкулеза условно делят на 3 взаимозаменяющие составляющие.

1. Классический туберкулёз. Он хорошо поддается химиотерапии (больные выделяют микобактерии, чувствительные к противотуберкулезным препаратам). Удельный вес этой составляющей — 30–50%, имеет тенденцию к уменьшению.
2. Химиорезистентный туберкулёз. Это проблема из проблем. Начальная устойчивость к противотуберкулезным средствам в большинстве случаев колеблется от 15% до 34%, а вторичная устойчивость к химиопрепаратам встречается в 65% случаях, количество больных увеличивается, эффективность лечения снижается, а летальность — возрастает. Удельный вес второй составляющей — 30–40%, имеет тенденцию к неустанным росту.
3. Это эпидемия туберкулеза и СПИДа, туберкулез у ВИЧ-инфицированных. Ее удельный вес возрастает. У больных СПИДом, а также у ВИЧ-инфицированных туберкулез диагностируется в 2–3 раза чаще в сравнении с общей популяцией [9].

1.4 Культивирование *M. Tuberculosis*

Культивирование *M. Tuberculosis* проводятся в лабораториях с разными целями. Питательные среды и условия инкубации должны соответствовать данным специфическим целям, назначаемым с учетом особенностей

физиологии микроорганизма. Чаще всего посеы на присутствие *M. Tuberculosis* проводят для подтверждения туберкулеза. Сам процесс выделения возбудителя из клинического материала детально описан в соответствующих лабораторных руководствах [10].

Культивирование *M. Tuberculosis* помимо задач диагностики, может проводиться со следующими целями: 1) изучение динамики роста и выживаемости, определение лекарственной чувствительности и механизмов действия *in vitro*, эти данные могут быть использованы при расчетах скорости роста по результатам колориметрии или по подсчету числа колоний 2) Подготовка целостных *M. Tuberculosis* к иммунологическим исследованиям и для уточнения вопросов патогенеза 3) Подготовка продуктов *M. Tuberculosis* для иммунологических, биохимических, патофизиических или генетических исследований [10].

Из клинического материала *M. Tuberculosis* лучше всего выделяются на обогащенных и сложных питательных средах, однако явная привередливость некоторых из подобных штаммов могла быть следствием неблагоприятных условий существования в организме хозяина или результатом примененной обработки клинического материала. После выделения *M. Tuberculosis* приспособляются к росту на относительно простых средах, содержащие примитивные источники углерода и азота в сочетании с буферными солями и микроэлементами. Отличительная особенность *M. Tuberculosis* по сравнению с большинством исследуемых бактерий – длительный период генерации. Даже в оптимальных условиях один репликационный цикл *M. Tuberculosis* требует от 16 до 18 часов. При подобных темпах генерации одна бактерия способна образовывать видимую колонию спустя лишь 2 недели после инокуляции. Исключительно длительные сроки (6-10 недель) требуется для выделения микобактерий из клинического материала, что вероятнее всего обусловлено их повреждением в результате указанных выше воздействий [1,9].

Лучше всего *M. Tuberculosis* растут при хорошей аэрации и почти прекращают размножение в анаэробных условиях. Очень большое число работ было посвящено изучению биохимии и физиологии *M. Tuberculosis*, выращиваемых в виде поверхностной пленки или взвешенных в жидкой среде. Выбор условий хорошей аэрации обычно диктуется желанием быстрее получения достаточного роста большого числа микроорганизмов, при этом не учитываются их физиологические особенности, связанные с той же степенью аэрации, между тем последнее воздействие влияет на физиологические особенности роста культуры. *M. Tuberculosis* имеют многие ферменты, необходимые для метаболизма в анаэробных условиях. Действительно, вирулентность этих микроорганизмов непосредственно связана с их способностью выживать, или размножаться при самых разных величинах

парциального давления кислорода в здоровых, воспаленных и некротизированных тканях. Кроме того, имеются явные различия биохимического и антигенного состава, а также степени патогенности между микроорганизмами, выращенными *in vitro* и выделенными из тканей хозяина [10].

M. Tuberculosis, как и все остальные микроорганизмы, очень богаты липидами. Эти микроорганизмы не образуют гидрофильного наружного слоя, являются настоящими гидрофобами и растут под тонкой восковидной пленкой и невзболтанной жидкой среде. При перемешивании образуются комки, если в среду не был добавлен детергент. Тенденции к формированию пленки подчеркиваются как принадлежность *M. Tuberculosis* к строгим аэробам. Однако после ранней и хорошо известной фазы поверхностного роста в самой пленке и в культуре формируются комки, содержащие *M. Tuberculosis*, растущие при разной по степени недостаточности кислорода.

Среды для культивирования.

А) Жидкие среды

Большинство ранних исследований *M. Tuberculosis* было направлено на продукцию туберкулина или иных грубых продуктов типа липидов или полисахаридов. Были разработаны питательные среды, содержащие простые и четко определенные ингредиенты, облегчающие выделение продуктов микобактерий, их очистку от макромолекулярных компонентов питательной среды и ускоряющие рост самого микроорганизма. Подобные среды, в том числе Сотона, Long, Kirchner, Wong, Proskauer и Beck, оставались весьма сходными по своему составу. Все они содержали соли фосфатов, цитрат $MgSO_4$, глицерин, а также аспарагин или соли аммония в качестве источника азота.

Многие среды содержали также железо, и во всех были нераспознаваемые примеси микроэлементов, попадавшие с иными ингредиентами. Подобные минимальные количества микроэлементов были необходимы для нормального роста микроорганизмов. Глицерин служил источником углерода, необходимого для размножения *M. Tuberculosis* и роста в виде как пленки, так и комков во взболтанной среде. Одной из важных особенностей питательных сред этого типа стало поддержание вирулентности *M. Tuberculosis*. Было отмечено, что культивирование микроорганизма в средах, содержащих детергенты, снижает его вирулентность для мышей, однако бактерии, полученные из ранней вуалевидной пленки, оказались высоковирулентными. Их вирулентность снижалась лишь при дальнейшем росте на таких синтетических средах при утолщении пленки и старении культуры. Возраст и физиологические характеристики культуры влияют на распределение *M. Tuberculosis* между легкими и селезенкой зараженных мышей [10].

Ф.Йоманс рекомендует следующую формулу простой синтетической среды для культивирования *M. Tuberculosis*, представляющую собой некоторую модификацию среды Proskauer и Beck: в 1 л дистиллированной воды последовательно растворяют 5 г аспарагина, 5 г K_2SO_4 и 20 г глицерина. Каждый из указанных ингредиентов должен полностью раствориться. С помощью 40% раствора NaOH устанавливается рН среды в пределах 6,0-7,0, затем добавляется 1,5 г цитрата магнезии, среду разливают по соответствующим сосудам и автоклавируют 20 мин. Не обязательно использовать особо чистые аспарагин и глицерин, так содержащиеся в них примеси микроэлементов, по некоторым сообщениям стимулируют рост *M. Tuberculosis*. В тоже время примеси жирных кислот или тяжелых металлов способны угнетать рост культуры, чаще всего эти примеси вносятся при недостаточной очистке или при стерилизации стеклянной посуды сухим методом. Добавление стерильного бульонного раствора в конечной концентрации 0,5 % связывает токсические вещества и ускоряет рост *M. Tuberculosis*. [9,10].

Количественная оценка роста микобактерий туберкулеза на синтетических питательных средах весьма затруднена, поскольку не поддается оптической оценке, а простое помутнение весьма неточно отражает содержание бактерий. Подобное затруднение было устранено в 1940 – х годах прибавлением к среде детергентов. В 1 л жидкой питательной среды содержится 2 г аспарагина, 0,5 г казитола, 2,5 г Na_2HPO_4 ; 1 г H_2HPO_4 ; 50 мг цитрата аммония железа;

10 мг $MgSO_4$; 0,1 мг $Zn SO_4$; 0,5 мг $CaCl_2$ 0,1 мг $CuSO_4$; 0,2 мг твин-80, 5 г бычьего альбумина и 7,5 г глюкозы. Конечная рН равна $6,6 \pm 0,2$. Для приготовления 1 л такой среды все перечисленные ингредиенты, кроме альбумина и глюкозы, растворяют в 900 мл дистиллированной воды и автоклавируют. Альбумин и глюкозу растворяют отдельно в 100 мл солевого раствора, отфильтровывают, и стерилизуют, после чего добавляют к основной среде с соблюдением требований асептики. Приготовленную среду разливают в посуду для посевов [10].

Наиболее распространенным детергентом является твин-80, полиоксиэтиленное производное сорбита моноолеата. Благодаря ему происходит диффузный рост *M. Tuberculosis* в жидких питательных средах, отдельные клетки и небольшие их скопления легко разделяются при встряхивании. Единственная проблема, возникающая при использовании твин-80, состоит в следовых примесях свободной олеиновой кислоты, высвобождающейся в среду в результате спонтанного гидролиза или специфического воздействия некоторых ферментов микобактерий. Свободные олеаты токсически действуют на *M. Tuberculosis*, но эта проблема решается при

добавлении в среду сывороточного альбумина. Олеаты связываются с альбумином и перестают угнетать рост; правда сами микобактерии включают этот комплекс в процессы *M. Tuberculosis* своего метаболизма. Среда, содержащая твин-80 и альбумин, вполне пригодна для изучения скорости и кинетики роста *M. Tuberculosis*, а также для подготовки их к биохимическим исследованиям [10].

Отрицательным фактором сред с твин-80 и альбумином остается присутствие в них нежелательных посторонних протеинов, затрудняющих идентификацию малых количеств микобактериальных антигенов. Отмывание бактерий перед их разрушением и экстракцией сводит это затруднение к минимуму, если речь идет о протеинах внутри бактериальной клетки. Более серьезное значение проблема добавленного альбумина приобретает при изучении следов внеклеточных протеинов, секретируемых самими микобактериями в окружающую среду [10].

Подавляющее число исследователей с использованием диффузного роста *M. Tuberculosis* выполнено на жидких средах с добавлением твин-80 и альбумина, но имеется возможность получать диффузный рост с одним детергентом без альбумина. Предложены детергенты тритоновой группы, не содержащие жирные кислоты и способные обеспечить дисперсный рост микобактерий без добавления альбумина. Для лучшего роста в такие среды приходится добавлять фосфолипид сфингомиелин. Глицерин как источник углеводов заметно стимулирует рост *M. Tuberculosis*, его обычно добавляют в питательные среды, стремясь получить больший их высеv. У глицерина есть и определенные отрицательные моменты. Так он стимулирует избыточную продукцию липидов и полисахаридов микобактериями. Это препятствует выделению и очистке других составных элементов, прежде всего протеинов. Кроме того, глицерин резко увеличивает потребление кислорода *M. Tuberculosis*, а при недостаточном его поступлении это может привести к нехватке растворенного кислорода, а затем к гибели и аутолизу микобактерий в диффузной культуре.

Б) Плотные среды

Для выделения *M. Tuberculosis* из клинического материала применяют множество конденсированных плотных сред на яичной основе, в том числе среды Левенштейна-Йенсена, Валленштейна. Они повышают высеваемость возбудителя непосредственно из клинического материала по сравнению с полусинтетическими агаровыми средами. Яичные среды весьма богаты фосфолипидами и протеинами, способными связывать или нейтрализовывать токсичные продукты, содержащиеся в клиническом материале. Однако подобные среды не вполне пригодны для исследовательских целей из-за сложности своего состава и качественных различий ряда ингредиентов, а также

в связи с неодинаковым воздействием температурного режима при их приготовлении.

Агаровые среды для культивирования обычно приготавливают на основе полусинтетических питательных сред, соответствующим образом обогащенных и дополненных. Агаровые среды используются в основном для количественной оценки роста *M. Tuberculosis*, характеристики их выживаемости и определения лекарственной чувствительности. Обычно для стимуляции роста на этих средах их инкубируют в условиях повышенного содержания CO₂. Основное отличие среды с твин-80 состоит в освобождении агара от олеиновых кислот и их замене на глюкозу в дополнительном альбуминовом комплексе.

В) Другие среды

К другим так называемым «питательным средам», обеспечивающим получение больших количеств *M. Tuberculosis* причисляют и легкие мышей. Возбудители, скапливающиеся в значительных количествах в легких инфицированных мышей, характеризуются выраженными биохимическими, физиологическими и иммунологическими особенностями, отличающими их от микобактерий, культивируемых обычными методами.

Пределы колебаний температур, благоприятных для оптимального роста *M. Tuberculosis*, гораздо уже, чем у остальных представителей рода микобактерий. Проводилось ежедневное непродолжительное встряхивание пробирок при температуре < 29 °С. Темпы роста заметно ускорились по мере повышения температуры на следующие 10 °С вплоть до 39 °С, но быстро замедлялись при дальнейшем ее возрастании. Рост культур прекращался при температуре 42 °С. Для практических целей *M. Tuberculosis* следует культивировать при температуре 37 °С, допуская небольшие ее колебания, не оказывающие заметного влияния на темпы роста [10].

1.5 Стратегия разработки новых препаратов

Возникновение штаммов *M. Tuberculosis*, устойчивых к существующим лекарственным препаратам, подчеркивает срочность необходимости в создании новых антимикробных средств. Фармацевтические компании не проявляли видимого интереса к этому в течении последних 30 лет, хотя координированные усилия по скринингу общих антимикробных компонентов и по установлению их активности относительно *M. Tuberculosis* предпринимались во всем мире. Недавние достижения генетических методик мониторинга жизнеспособности открыли новый и более быстрый подход к такому скринингу. Широкие перспективы методов молекулярной генетики, позволяющие изучать микобактерии, и манипулировать ими, дают доступ к обширной информации по их биохимии и метаболизму. Использование подобной информации

предоставляет важные возможности в разработке нового поколения антимикробных препаратов [11].

Основная задача и главное преимущество антимикробных препаратов – избегать воздействия на ферменты бактерий, аналогичные или очень близкие к ферментам клеток млекопитающих. Наряду с этим такие препараты не должны нарушать нормальную микробную флору при длительных курсах противотуберкулезной терапии и исключать возможность переноса факторов устойчивости от других видов бактерий. Весьма желательно, чтобы новые препараты обладали специфическим действием на микобактерии. Лекарственные препараты должны действовать на факторы, особенно необходимые для выживания бактерий, и в идеале оставаться активными в отношении микобактерий на протяжении всего цикла их развития как внутри, так и вне клеток млекопитающих [12].

Большинство антибактериальных препаратов ингибируют пути синтеза макромолекул (протеины, нуклеиновые кислоты). Ряд антибактериальных средств широкого спектра действий оказывается вполне эффективным и в отношении микобактерий [12].

Стрептомицин, первый из антибиотиков, получивший всемирное распространение при лечении туберкулеза, относится к семейству аминогликозидов, действие которых направлено на нарушение синтеза бактериальных протеинов. Устойчивость к стрептомицину у *M. Tuberculosis* как и у других бактерий, связана с мутацией. Канамицин также относится к аминогликозидам и применяется при лечении туберкулеза [11].

Сульфонамиды были первыми из достаточно эффективных антибактериальных средств, применяемых в клинике. По своей структуре они подобны парааминобензойной кислоте, ингибирующей биосинтез тетрагидрофолиевой кислоты и блокирующей продукцию пиримидиновых и пуриновых оснований [11].

Фторхинолоны (офлоксацин, цiproфлоксацин) являются препаратами широкого антибактериального действия, основанного на разрушении хромосом бактерий, благодаря ингибированию активности ДНК-гиразы. Препараты из этой группы приобретают все возрастающее значение при лечении микобактериальных инфекций [11].

Рифампицин, обладающий широким спектром антибактериального действия, остается также одним из главных средств в лечении микобактериальных инфекций. Мишени приложения его действия достаточно хорошо известны: это ингибция транскрипции при его взаимодействии с субъединицей молекул полимеразы РНК бактерий [11].

1.6 Классификация лекарственных средств, применяемых при лечении туберкулёза

На сегодняшний день группа противотуберкулезных препаратов насчитывает 42 международных названия препаратов, на основе которых выпускается более 210 торговых марок лекарств. Группа противотуберкулезных препаратов за последние 5 лет обновилась в значительной мере (примерно на 25%): тиокарлид, теризидон, морионамид, феназид, глутоксим, капреомицин, флуренизид.[13]

Классификация по происхождению:

А) *Синтетические* :

- изониазид
- этамбутол
- этионамид
- пиразинамид
- натрия парааминосалицилат
- протионамид

Б) *Антибиотики* :

- рифампицин
- циклосерин
- канамицин
- стрептомицин

В) *Фторхинолоны* :

- офлоксацин
- левофлоксацин
- моксифлоксацин
- ципрофлоксацин

Классификация по клинической эффективности и переносимости :

А) Основные лекарственные препараты (препараты 1 ряда):

- рифампицин
- изониазид
- пиразинамид
- этамбутол
- стрептомицин

Б) Резервные лекарственные препараты (препараты 2 ряда):

- канамицин
- этионамид
- циклосерин
- моксифлоксацин

- ПАСК
- протионамид

Классификация по эффекту, оказываемому на бактериальную клетку:

1. Бактерицидные ЛС:
 - стрептомицин
 - ломефлоксацин
2. Бактериостатические ЛС :
 - рифампицин
 - изониазид
 - пиразинамид
 - этамбутол
 - этионамид
 - ПАСК

В основе лечебного действия противотуберкулезных препаратов лежит их непосредственное бактериостатическое и бактерицидное влияние на микробную клетку. Известно, что химиопрепараты по-разному действуют на микробную клетку. Так, изониазид оказывает бактерицидное действие, особенно на юные размножающиеся микробные клетки, подавляя синтез миконевой кислоты в бактериальной стенке, а также разрушая цитоплазму и ее гранулярную субстанцию, состоящую из ДНК. Изониазид способен уничтожить более 90% МБТ после 7 дней применения [13].

Рифампицин также дает бактерицидный эффект, подавляя активность рибосомной РНК-полимеразы и ингибируя синтез ДНК.

Рифампицин, как и изониазид, влияет не только на быстро, но и на медленно размножающиеся и даже персистирующие МБТ. Пиразинамид оказывает бактерицидное действие на медленно размножающиеся МБТ, в том числе располагающиеся внутриклеточно, в макрофагах [13].

Механизм действия пиразинамида полностью не изучен. Наибольший эффект он дает в кислой среде (рН 5,5) на персистирующие варианты. Стрептомицин ингибирует рибосомальные протеины, подавляя их синтез. Эффект его проявляется не сразу, а через несколько поколений микробных клеток. Препарат характеризуется сравнительно слабым бактерицидным действием. Этамбутол разрушает стенку микробной клетки, оказывая бактерицидное действие только в больших дозах (24 мг/кг) [12,13].

Известно, что механизм действия химиопрепаратов на микробную клетку различен. Одни ингибируют синтез клеточной стенки бактерий путем разрушения пептидогликана, липопротеидной фракции, подавления функции и диффузии через цитоплазматическую мембрану; другие угнетают синтез

нуклеиновых кислот путем нарушения метаболизма РНК и ДНК, избирательного действия на плазмиды, митохондрии, ингибирования РНК-полимеразы, образования разрывов в цепи ДНК, ингибирования репликации ДНК; третьи влияют на функции рибосом, что приводит к разрушению цитоплазмы и гранулярного аппарата [12,13].

Следует также иметь ввиду, что химиопрепараты оказывают разное влияние на внутриклеточно и внеклеточно расположенные МБТ. Так, при прогрессировании процесса происходит интенсивное размножение МБТ в организме человека, их выход в ткани пораженных органов, распространение лимфобронхогенным и гематогенным путем, в результате чего появляются новые участки воспаления, развивается казеозный некроз. Большинство микобактерий в этот период находятся внеклеточно, а та часть бактериальной популяции, которая оказалась фагоцитированной макрофагами в процессе воспалительной реакции, вследствие интенсивного внутриклеточного размножения обуславливает разрушение фагоцитов, и вновь оказывается расположенной внеклеточно [13].

Таким образом, внутриклеточная локализация МБТ на этом этапе является сравнительно кратковременной.

Рассмотрим характеристики противотуберкулезных препаратов по классификации.

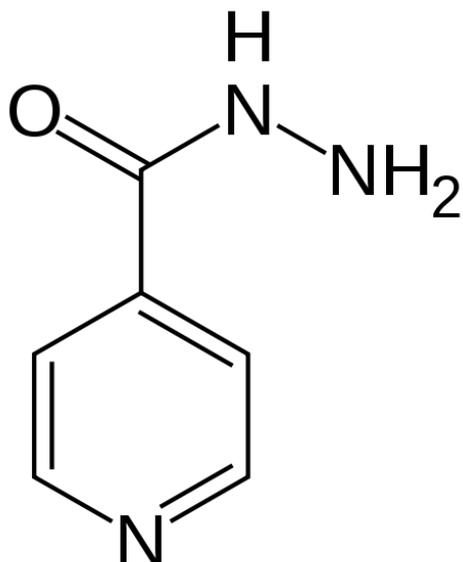
Препараты 1 ряда:

Изониазид.

На фармацевтическом рынке представлен в виде таблеток 100 и 300 мг, раствора для инъекций 25 мг/мл в ампулах по 2 мл.

Изониазид представляет собой белый кристаллический порошок горького вкуса с температурой плавления 170 ° С , растворяющийся в воде и спирте. Он обладает хорошей бактерицидной активностью, подавляя размножение микобактерий туберкулеза. [14]

Препарат хорошо всасывается из желудочно-кишечного тракта, и легко проникает во все биологические ткани и жидкости. Препарат равномерно распределяется в организме, проникает в клетки, в том числе в зоны некроза.

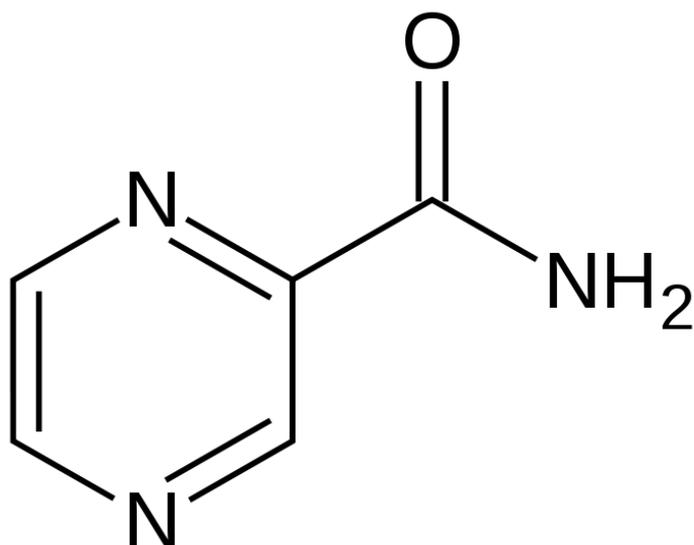


Выводится из организма главным образом почками в течение 24 часов. Изониазид обладает чрезвычайно сильным бактерицидным и бактериостатическим действием против чувствительных к нему микобактерий туберкулеза человека. Большинство исследователей отмечают, что антибактериальный эффект в большей степени зависит от максимальных концентраций препарата в крови и тканях, чем от продолжительности контакта микобактерий туберкулеза (МБТ) с препаратами [14].

Механизм действия изониазида основан главным образом на подавление синтеза микобактериальной ДНК. Кроме того изониазид угнетает синтез фосфолипидов МБТ и нарушает целостность их стенки, а также блокирует различные окислительные процессы в микробной клетке.

Влияние на организм многообразно. В нервной системе усиливаются процессы торможения, замедляется частота сердечных сокращений, нарушается обмен витаминов – пиридоксина, тиамина, аскорбиновой кислоты, рибофлавина.

Пиразинамид



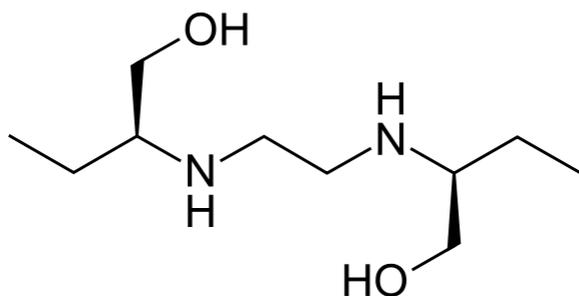
Белый кристаллический порошок, растворим в воде при нагревании. Пиразинамид оказывает слабое бактерицидное, но сильное стерилизующее действие на МБТ и проникает во все ткани организма. Максимальные концентрации в плазме крови достигаются через 2 часа после приема.

Метаболизируется главным образом в печени и выделяется в виде метаболитов и частично в неизменном виде с мочой и калом. Антибактериальная активность в отношении МБТ проявляется в кислой среде в концентрации 10-12 мкг/мл. [14]

По степени активности против микобактерий туберкулеза уступает изониазиду и многим другим противотуберкулезным средствам. Однако действует на МБТ, устойчивые к другим препаратам, расположенные как вне, так и внутриклеточно. Важнейшим условием действия антимикробной активности пиразинамида является превращение в пиразинкарбоновую кислоту [14].

На рынке представлен в основном таблетками дозировкой 400 и 500 мг.

Этамбутол



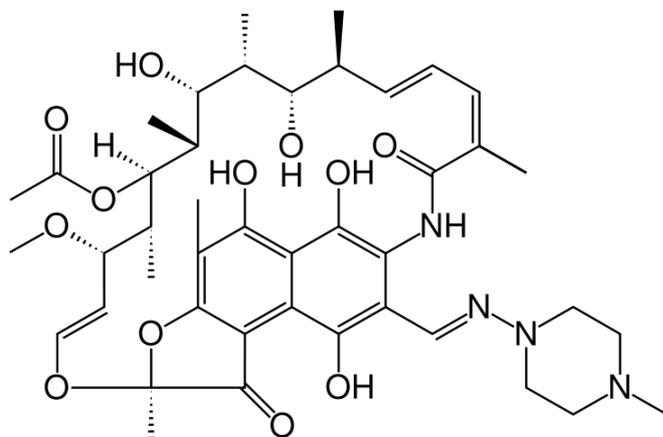
Представляет собой белый кристаллический порошок, хорошо растворяющийся в воде. Устойчив при нагревании.

Препарат быстро всасывается из ЖКТ: максимальные концентрации в плазме достигают через 2-4 часа после приема. Этамбутол в основном выводится с мочой, как в неизменном виде, так и в виде неактивных метаболитов. Препарат обладает выраженной бактериостатической активностью в отношении МБТ. Подавляет размножение МБТ устойчивых к другим противотуберкулезным препаратам. Используется для предупреждения и замедления процесса развития лекарственной устойчивости [14].

Механизм действия основан на подавлении синтеза микобактериальной РНК, в результате чего блокируется биосинтез клеточной стенки.

На рынке в основном представлен таблетками 100 и 400 мг.

Рифампицин -



Полусинтетический антибиотик широкого спектра действия, из группы рифамицина. Оказывает бактериостатическое, а в высоких концентрациях — бактерицидное действие. Высоко активен в отношении *Mycobacterium tuberculosis*, является противотуберкулезным препаратом первого ряда. Активен в отношении грамположительных микроорганизмов (*Staphylococcus* spp., в том

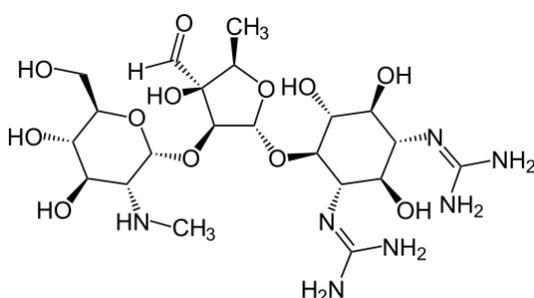
числе и множественно устойчивых; *Streptococcus* spp., *Bacillus anthracis*), а также в отношении некоторых грамотрицательных микроорганизмов.

Устойчивость к рифампицину развивается быстро. Перекрестной устойчивости с другими противотуберкулезными препаратами (за исключением остальных рифампицинов) не отмечено [14].

Рифампицин хорошо всасывается из желудочно-кишечного тракта. Максимальная концентрация в крови достигается через 2-2.5 ч после приема внутрь. Рифампицин хорошо проникает в ткани и жидкости организма, и обнаруживается в терапевтических концентрациях в плевральном экссудате, мокроте, содержимом каверн, костной ткани. Наибольшая концентрация препарата создается в тканях печени и почек. Из организма выводится с желчью и мочой. Устойчивость к рифампицину развивается быстро. Перекрестной устойчивости с другими антибиотиками не наблюдается (за исключением рифампицина). Основным показанием к применению является туберкулез легких и других органов. Кроме того, препарат применяют при различных формах лепры и воспалительных заболеваниях легких и дыхательных путей (бронхит, пневмония), вызываемых полирезистентными стафилококками, при остеомиелите, инфекциях моче- и желчевыводящих путей, острой гонорее и других заболеваниях, вызванных чувствительными к рифампицину возбудителями. [14].

В связи с быстрым развитием устойчивости микроорганизмов, рифампицин назначают при нетуберкулезных заболеваниях только в тех случаях, если неэффективны другие антибиотики. Рифампицин оказывает вирулоцидное действие на вирус бешенства, подавляет развитие рабического энцефалита; в связи с этим его используют для комплексного лечения бешенства в инкубационном периоде. Препарат имеет яркий коричнево-красный цвет [14].

Стрептомицин



Антибиотик из группы аминогликозидов, продуцируемый в процессе жизнедеятельности лучистыми грибами - стрептомицетами. Был выделен еще

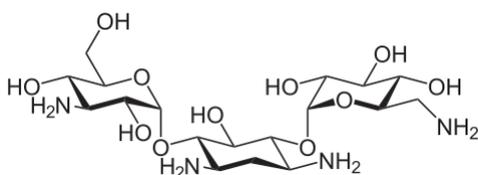
в 1944 году. Он обладает бактерицидным действием в отношении возбудителя, туберкулеза и некоторых других чувствительных к нему грамотрицательных микроорганизмов. При приеме внутрь стрептомицин плохо всасывается, но после внутримышечной инъекции быстро проникает во все клеточные компоненты мышечной ткани, и достигает бактерицидных концентраций. Период полувыведения из плазмы составляет 2-3 часа, выделяется почками в течении 12 часов.

На рынке стрептомицин в основном представлен в ампулах и флаконах для инъекций по 0,5 и 1 г. [14].

Препараты 2 ряда

Рассмотрим препараты инъекционной формы (амикацин, канамицин), фторхинолоны (моксифлоксацин, офлоксацин), а также бактериостатические препараты (этионамид, протионамид, теризидон, циклосерин).

Канамицин



Представляет собой аминогликозидный антибиотик, одобрен как для краткосрочного лечения серьезных инфекций, вызванных чувствительными штаммами микроорганизмов. Он выделен из культуральной жидкости актиномицета *Streptomyces kanameticus*, активное вещество – канамицина сульфат. Представляет собой горький белый порошок или пористую массу. Хорошо растворяется в воде, и не растворяется в спирте [14].

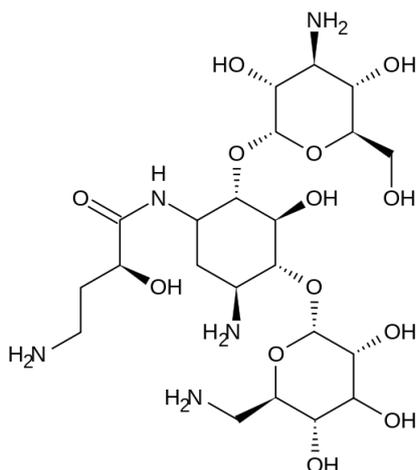
Канамицин как и стрептомицин плохо всасывается из желудочно-кишечного тракта, наибольшая концентрация препарата достигается через 1-2 часа, и остается эффективной в течение 5-8 часов. Выведение препарата с мочой может нарушаться при почечной недостаточности.

Обладает широким спектром антимикробного действия, в том числе в отношении микобактерий туберкулеза, большинства грамположительных и грамотрицательных бактерий. Как и стрептомицин, плохо преодолевает клеточные и тканевые мембраны, и не активен в отношении внутриклеточно расположенных и метаболически неактивных популяций микобактерий туберкулеза (МБТ). В целом канамицин действует на микобактерии слабее, чем стрептомицин, но активен в отношении устойчивых к стрептомицину штаммов

микобактерий туберкулеза. На рынке представлен в виде порошка для инъекций, и раствора для инъекций в ампулах [14].

Активный фармацевтический ингредиент (АФИ) канамицина производится путем ферментации. Это специализированный процесс, в мире немного производителей, у которых есть мощности для производства гарантированного качественного АФИ путем процесса ферментации.

Амикацин

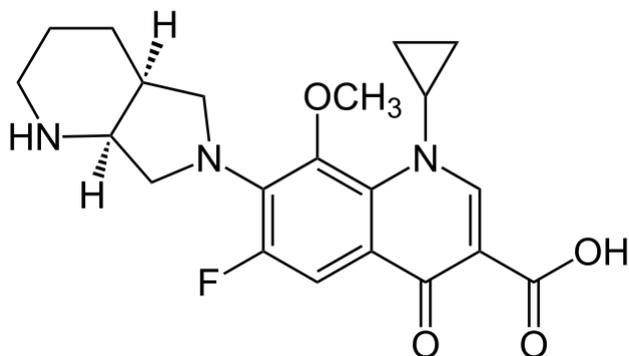


Амикацин – полусинтетический антибиотик из группы аминогликозидов. Активное вещество – амикацина сульфат. По физическим свойствам амикацин сходен с канамицином. Амикацин быстро всасывается после внутримышечного введения, выделяется из организма в неизменном виде с мочой главным образом за счет гломерулярной фильтрации. Эффективные концентрации антибиотиков присутствует в крови и в течении 12 и более часов. Амикацин обладает более широкой антибактериальной активностью, чем стрептомицин и канамицин. Доказана его бактерицидная активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. Представлен в виде раствора для инъекций (2 и 4 мл) в ампулах и флаконах [14].

Фторхинолоновые антибиотики (моксифлоксацин, офлоксацин) – антибактериальные препараты широкого спектра действия, они прекрасно всасываются внутрь при приеме внутрь, достигая максимальной концентрации через 1-3 часа. Препараты хорошо проникают в органы и ткани, а также клетки [14].

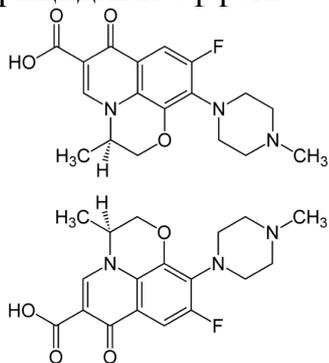
Проявляют хорошую бактерицидную активность в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий, в том числе микобактерий туберкулеза. В терапии в основном фторхинолоновые препараты применяют в основном в комбинации с другими препаратами.

Моксифлоксацин – синтетический антибиотик.



Представлен желтым кристаллическим порошком, со специфическим запахом и горьким вкусом. Противомикробное средство обладает бактерицидным действием. Проявляет широкую активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. При пероральном приеме всасывается почти полностью (независимо от приема пищи). Быстро распределяется в организме, высокие концентрации достигаются в легких, выводится почками в неизменном виде в виде метаболитов. На рынке представлен таблетками дозировкой 400 мг.[14]

Офлоксацин – антибактериальное средство из группы фторхинолонов 2 поколения. Кристаллический порошок слегка желтоватого цвета, без запаха, с горьким вкусом. Малорастворим в воде и спирте. Противомикробное средство широкого спектра действия, оказывая бактерицидный эффект.



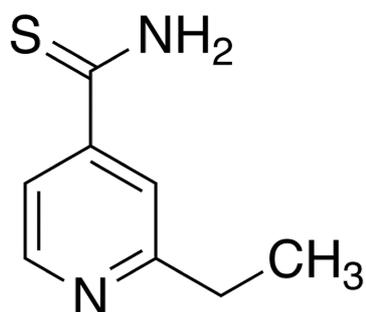
Действует на бактериальный фермент ДНК-гиразу, обеспечивающую сверхспирализацию и таким образом стабильность ДНК бактерий (дестабилизация цепей ДНК приводит к гибели микроорганизмов)

Хорошо всасывается в желудочно-кишечном тракте, метаболизируется в печени, из организма выводится преимущественно почками,

На рынке представлен таблетками 200, 300, 400 мг [14].

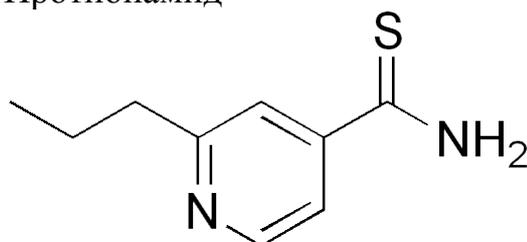
Бактериостатические препараты

Этионамид –



Желтый кристаллический порошок, со слабым или умеренным запахом серы. Практически нерастворим в воде и эфире, трудно растворим в спиртах.

Протионамид –

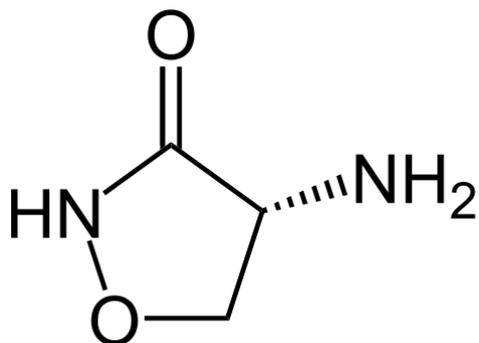


Желтый кристаллический порошок, со слабым или умеренным запахом серы. Практически нерастворим в воде, мало растворим в эфире, хлороформе, растворим в этиловом и метиловом спирте [15].

Этионамид и протионамид довольно медленно всасываются из желудочно-кишечного тракта. Максимальная концентрация в крови достигается через 3-7 ч после приема. Обладают узкоспецифическим антимикробным действием: в терапевтических концентрациях задерживают размножение микобактерий туберкулеза человека. Бактерицидное действие достигается при больших концентрациях препарата. Активны в отношении внутриклеточно и внеклеточно расположенных микобактерий туберкулеза, в том числе в кислой среде.

На рынке представлены таблетками дозировкой 250 мг.

Циклосерин – антибиотик, выделенный из культур *S.Orchidaceus*, *S.garyphalus*, *S.lavendulus*.



Представлен ромбическими кристаллами, белого или светло- желтого цвета, хорошо растворимые в воде. Водные растворы стабильны в основной среде, однако в кислой среде циклосерин очень быстро разрушается. Обладает широким спектром антибактериального действия: угнетает грамположительные и грамотрицательные бактерии. Задерживает рост микобактерий туберкулеза. После приема внутрь быстро всасывается из пищеварительного тракта, появляется в эффективных концентрациях в крови и ткани, внутренних органах. Самый высокий уровень в крови достигается через 3-4 часа. Эффективная концентрация в плазме удерживается до 10 часов. В неизменном виде циклосерин и его метаболиты выводятся преимущественно почками.

Представлен капсулами дозировкой 250 мг.

В список лекарственных препаратов, предварительно оцененных на соответствие техническим условиям, составленный Всемирной организацией здравоохранения, включено относительно небольшое количество средств, для лечения устойчивого туберкулеза. Для многих лекарств, таких как теризидон, протионамид, канамицин существует лишь один производитель с подтвержденной гарантией качества. Для таких, как этионамид, моксифлоксацин существует лишь два производителя с гарантией качества [15].

Сложности, с которыми сталкиваются при попытке увеличения источников для производства, связаны с производством активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) . В случае с канамицином , все конечные продукты , подтвержденные качеством, зависят от одного единственного источника АФИ, что лишней раз делает попытку поставок капреомицина чрезвычайно уязвимым [15].

Применение лекарств, для лечения туберкулеза сопряжено с невыносимыми побочными эффектами, которые могут включать в себя тошноту, рвоту, головную боль, головокружение, диарею. При таком количестве

жалоб пациентов, многие возлагают надежды на исследования, и разработку новых принципов лечения [12].

Исследования и разработка противотуберкулезных препаратов и диагностических средств были заброшены на протяжении десятков лет, поскольку это заболевание в основном затрагивает развивающиеся страны и поэтому не представляет из себя прибыльный рынок фармацевтической индустрии. Однако в случае с противотуберкулезными препаратами 2 ряда, проблема усугубляется, поскольку используемые лекарства обладают избирательной эффективностью [15].

После почти 40 лет застоя в разработке противотуберкулезных препаратов наметился обнадеживающий прогресс, когда несколько фармацевтических компаний возобновили исследовательскую деятельность по исследованиям и разработке препаратов.

Чтобы в долгосрочной перспективе обеспечить целый ряд эффективных вариантов лечения, необходимо наличие небольшого количества новых медикаментов с инновационными действиями механизмами действия, что позволило бы выбирать оптимальные режимы лечения и достичь цели — эффективно работающей терапии против туберкулеза. В краткосрочной перспективе очень важно сделать существующее лечение как можно переносимым для пациентов. Это предполагает проведение исследований по уменьшению возникновения тяжелых побочных эффектов, оптимизировать дозировки, разработать более простые технологии в применении для приготовления лекарственных средств.

1.7 Циклодекстрины

Циклодекстрины - углеводы, циклические олигомеры глюкозы, получаемые ферментативным путём из крахмала. В составе циклодекстринов остатки D-(+)-глюкопиранозы объединены в макроциклы α -D-1,4-гликозидными связями.

Первые циклодекстрины были обнаружены М. Вилльером в 1891 г., исследовавшим продукты метаболизма бактерий *Clostridium butyricum*, и давшим первое описание этих кристаллических углеводов под названием «целлюлозин» (cellulosine). Наибольший вклад в исследование циклодекстринов внёс позднее (1903—1911 гг.) Ф. Шардингер, в честь которого они длительное время назывались декстринами Шардингера [15].

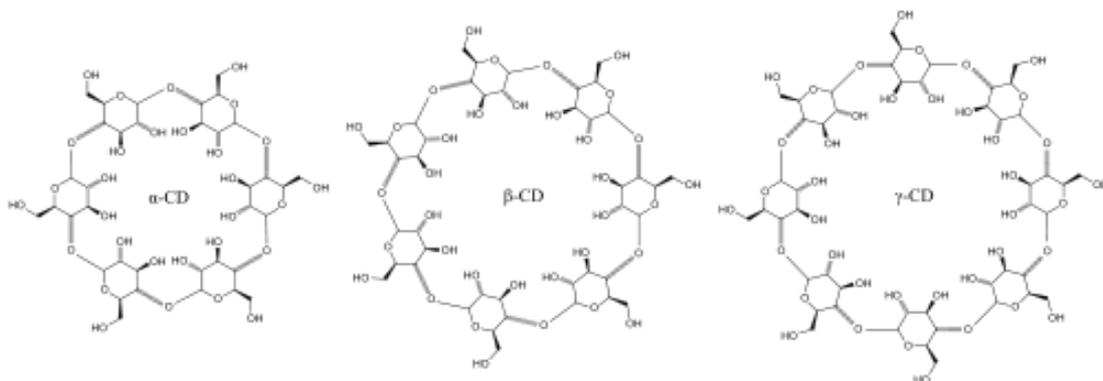
Структура и свойства

Все циклодекстрины представляют собой белые кристаллические порошки, нетоксичные, практически не имеющие вкуса. Внешне — это белые кристаллические и аморфные субстанции. Количество кристаллизационной

воды варьирует от 1 до 18 % в зависимости от методов сушки и приготовления препарата [15].

Циклодекстрины различают по количеству остатков глюкозы, содержащихся в одной их молекуле. Так простейший представитель — α -циклодекстрин — состоит из 6 глюкопиранозных звеньев. β -циклодекстрин содержит 7, а γ -циклодекстрин — 8 звеньев. Именно эти три типа наиболее распространены, и исследованы. Циклодекстрин, молекулы, которого состоят из 5 глюкопиранозных звеньев, ферментативными методами до сих пор не синтезирован.

Структура основных циклодекстринов



Форма молекул циклодекстринов в грубом приближении представляет собой тор, также напоминающий полый усечённый конус. Данная форма стабилизирована водородными связями между ОН-группами, а также α -D-1,4-гликозидными связями. Все ОН-группы в циклодекстринах находятся на внешней поверхности молекулы.

Поэтому внутренняя полость циклодекстринов является гидрофобной, и способна образовывать в водных растворах комплексы включения с другими молекулами органической и неорганической природы. В комплексах включения кольцо циклодекстрина является «молекулой хозяином», включённое вещество называют «гостем» [15].

Комплексы включения в воде диссоциируют на циклодекстрин и исходное вещество, проявляя основные свойства последнего. При нагревании выше 50—60 °С комплексы обычно распадаются полностью, и обычно восстанавливают свою структуру при охлаждении [4].

В процессе образования комплексов меняются многие исходные свойства включаемых соединений. Нерастворимые в воде вещества, приобретают большую растворимость, становятся стабильными в процессах окисления и гидролиза, меняют вкус, цвет и запах. Из жидкостей и даже некоторых

благородных газов могут быть получены порошкообразные соединения, из маслообразных веществ — полностью растворимые в воде препараты (например, жирорастворимые витамины) [4].

Циклодекстрины обладают способностью образовывать комплексы включения с различными органическими молекулами путем молекулярной инкапсуляции.

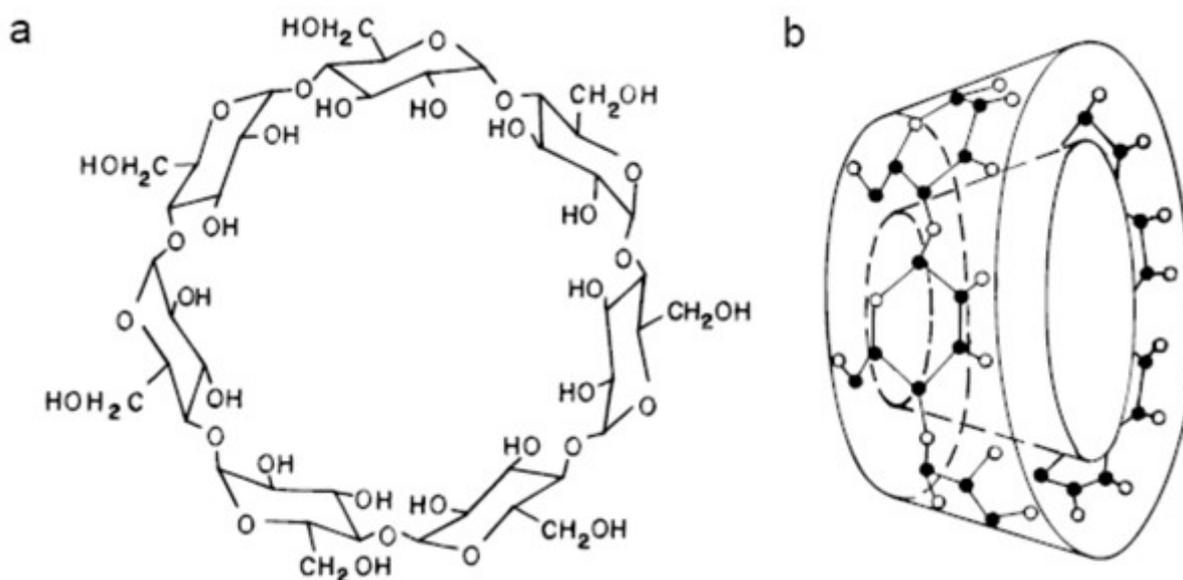
Благодаря этому свойству циклодекстрины стали удобным инструментом для создания новых лекарственных препаратов.

Молекулярное инкапсулирование – иммобилизация активных молекул в полимерную часть матрицы [4].

Растет интерес к циклодекстринам в качестве средства для улучшения физической и химической активности стабильных активных субстанций. (защита от воздействия света, окисления) для повышения переносимости лекарственных препаратов

Рассмотрим основные методы приготовления комплексов:

- Метод соосаждения
 - циклодекстрин растворяется в воде, субстанция добавляется при перемешивании
 - комплекс осаждается, и фильтруется
- Метод насыщения
 - циклодекстрин добавляется к водному раствору молекулы «гостя» с образованием насыщенного водного раствора
 - комплекс осаждается, а затем фильтруется
- Метод пасты
 - циклодекстрин и молекула «гостя» смешиваются в скоростном смесителе с небольшим количеством воды с образованием пастообразной массы.
- Метод влажного смешения и нагревания
 - циклодекстрин и субстанция перемешиваются с небольшим количеством воды при нагревании
- Метод экструзии
 - циклодекстрин, субстанция и небольшое количество воды пропускают через экструдер
- Метод сухого смешения
- Метод распылительной сушки
 - компоненты растворяются в воде или в смеси вода-растворитель, далее продукт получают распылительной сушкой [17].



Химическое и тороидальное строение β – циклодекстрина.

Почти все направления использования циклодекстринов включают комплексообразование.

Во многих случаях комплексные соединения отделяются в более или менее чистую форму и используются как кристаллические вещества (комплексы лекарств или ароматизаторов), в то время как в других случаях процесс комплексообразования - только промежуточное состояние (катализ циклодекстрина, разделение смесей).

Благодаря своим свойствам циклодекстрины находят широкое применение в производстве различных лекарственных средств. Они позволяют:

- повысить растворимость субстанций в воде, скорость их растворения и биодоступность;
- повысить физическую и химическую стабильность субстанций (увеличить срок годности и сократить время вывода препарата на рынок);
- улучшить переносимость при парентеральном или местном применении;
- улучшить органолептические свойства препарата (маскировка вкуса, запаха);
- улучшить транспорт через биологические мембраны;
- увеличить скорость растворения;
- уменьшить раздражение на желудочно-кишечный тракт [17].

1.7.1 Применения циклодекстринов в фармацевтике

Повышение уровня биологической доступности. Одним из наиболее общих применений циклодекстринов является формирование комплексов включения со слаборастворимыми в воде активными веществами для улучшения биологической доступности. Лекарственные средства со слабой биологической доступностью обычно обладают низкой степенью растворимости в воде и/или имеют тенденцию сильно кристаллизоваться [17].

Циклодекстрины растворяются в воде, и образуют комплексы включений с бесполосными молекулами или с функциональными группами нерастворимыми в воде соединениями. Получившийся комплекс прячет большую часть гидрофобной функциональности активного вещества лекарственного средства во внешней полости циклодекстрина, в то время как гидрофильные гидроксильные группы на внешней поверхности остаются под воздействием окружающей среды. Результирующий эффект представляет собой растворимый в воде циклодекстриновый комплекс лекарственного средства. В добавление к улучшению растворимости, циклодекстрины также предотвращают кристаллизацию активных ингредиентов путем образования комплекса из индивидуальных молекул лекарственного средства так, чтобы они больше никогда не могли собраться в кристаллическую решетку [17].

Маскировка вкуса и запаха

В связи с растущей популярностью растворяющихся во рту и жевательных лекарственных форм для педиатрических и гериатрических пациентов, существует растущая потребность маскировать вкус и запах неприятных активных веществ лекарственного средства. Заключение в оболочку при помощи полости циклодекстринов, молекулы или особые функциональные группы, которые вызывают неприятные вкусы или запахи, спрятаны от сенсорных рецепторов. Готовые формулы обладают незначительным запахом, или запах и вкус отсутствуют вообще, и, таким образом, являются более приемлемыми для пациента.

Стабилизация активного вещества

Светостойкость, тепловая устойчивость и стойкость к окислению активных веществ может быть улучшена при помощи образования циклодекстриновых комплексов. При образовании комплекса включения циклодекстринов можно предотвратить реакции с радиацией, нагревом, кислородом, водой или другими химическими веществами. Когда активная молекула удерживается в полости циклодекстрина, реагентам, таким как вода или кислород очень сложно проникнуть внутрь полости и вступить в реакцию с защищенным активным веществом. В случае воздействия термической или

радиационной деградации активное вещество должно подвергнуться молекулярным перегруппировкам. Снова, благодаря стерическим ограничениям на гостевые молекулы внутри полости, активному веществу сложно измельчаться под воздействием жары или света, но, если активное вещество все же измельчается, то фрагменты не обладают мобильностью, которая необходима для отделения и вступления в реакцию до образования простой новой комбинации [17].

Улучшения по совместимости

Часто необходимо комбинировать множественные ингредиенты или активные вещества в одну формулу. Однако разные лекарственные средства часто не сочетаются друг с другом или с неактивными ингредиентами в формуле. Помещая в капсулу один из несовместимых ингредиентов внутри циклодекстрина, формулу можно стабилизировать при помощи физического разделения компонентов для предотвращения взаимодействия

Снижение раздражения

Циклодекстрины также используются для снижения кожного, желудочно-кишечного или глазного раздражения. Активные ингредиенты, которые раздражают желудок, кожу или глаза, можно заключить в капсулу из циклодекстрина для снижения их раздражающего свойства путем уменьшения местной концентрации активного вещества, не превышая порога раздражительности. Поскольку комплекс постепенно оделяется, активное вещество проникает в тело для терапевтических целей, но его местная свободная концентрация остается ниже уровня, который может оказывать раздражающее действие.

Новые лекарственные формы

С жидкими или летучими активными ингредиентами сложно работать, и заключать их в стабильные оральные или твердые лекарственные формы. При заключении в циклодекстриновые капсулы данных веществ, происходит переход масел или жидкостей в порошки с хорошими подвижными свойствами, которые легко можно сформировать в таблетку с обусловленными ингредиентами и оборудованием.

Нормативная информация и безопасность

Поскольку циклодекстрины происходят из крахмала, они изначально считаются нетоксичными материалами. Однако β -циклодекстрин может образовывать нерастворимые комплексы с холестерином, который нарушает функцию почек, поэтому нельзя использовать данное вещество в парентеральной медицине, и его использование внутрь должно быть ограничено до дневной максимальной дозы в 5 мг/кг. [17].

1.8 Биофармация

Биофармация – раздел фармацевтической науки, которая изучает зависимость действия лекарственных препаратов, которая изучает зависимость действия лекарственных препаратов от фармацевтических факторов, влияющих на терапевтическую эффективность. Этим словом удачно и достаточно полно определен комплекс зависимостей, связывающих между собой лекарственное вещество и лечебный эффект приготовленного лекарственного препарата.

Биофармация родилась как результат исследований эффективности и безопасности лекарственных препаратов с позиции интегрирования различных научных направлений: технологии, физики, фармакологии, медицины, биохимии, и биологии [21].

Биофармация как теоретическая основа технологии лекарственных форм изучает роль фармацевтических факторов, исследует биологическую доступность, препаратов и методов ее определения; разрабатывает методы определения лекарственных веществ в биологических жидкостях; изучает фармакокинетику препаратов в зависимости от содержания действующего вещества в крови и других биологических жидкостях [21].

Тщательные исследования процессов всасывания лекарственных веществ показали, что на терапевтическую активность (эффективное высвобождение лекарственных веществ) особое внимание оказывает следующие факторы, которые названы фармацевтическими :

- *Химическая природа лекарственного вещества* (Например, соль, кислота, комплексные соединения). Проведенные исследования показали, что химическая модификация вещества значительно сказывается на кинетике всасывания и высвобождения его из организма. Она обязательно учитывается при разработке новых лекарственных препаратов [21,22].

Кинетика высвобождения и всасывания во многом обусловлена характером лекарственного вещества. Одно и то же вещество может быть использовано в качестве лекарственного вещества в разных химических состояниях. В простейших случаях это может касаться солеобразования того или иного активного вещества.

При переходе через липоидный барьер (стенка желудка, кишечника) большую роль играет степень ионизации. Вещества могут иметь кислый или щелочной характер. В зависимости от рН они могут быть в ионизированной или неионизированной форме [21].

- *Физическое состояние лекарственного вещества* (форма кристалла, размер частиц, распределение частиц по размерам, пористость, наличие или отсутствие заряда). Оно оказывает значительное влияние на его биологическую активность. Накоплено достаточное количество экспериментального материала о зависимости структуры веществ от их биологической активности. При тонком

измельчении лекарственные вещества лучше растворяются, быстрее и полнее участвуют в химических реакциях [22].

- *Вспомогательные вещества, их природа, количество.* Ни один фармацевтический фактор не оказывает столь сложного и значительного влияния на действующие вещества, как вспомогательные вещества, их природа и количество. Являясь своеобразной матрицей для активных веществ, постоянно контактируя с ними, вспомогательные вещества, их природа, количество. Являясь своеобразной матрицей для активных веществ, постоянно контактируя с ними, вспомогательные вещества сами обладают, определенными физико-химическими свойствами, которые в различных условиях могут проявляться по - разному, и во всех случаях применения так или иначе воздействуют на систему «лекарственное вещество - организм». Они могут усиливать, снижать, или изменять характер действия лекарственных веществ под влиянием различных причин (комплексообразование, адсорбция, молекулярные реакции), которые способны резко изменить скорость и полноту всасывания действующих веществ. Следует подчеркнуть, что применение любого вспомогательного вещества – это индивидуальный случай, и он требует проведения специальных исследований по выявлению влияния не только и не столько на технологические характеристики препарата, сколько на процессы всасывания и выведения лекарственных веществ [21].

- *Влияние одновременно принятых медикаментов.* Этот фактор является немаловажным, так как может привести к летальному исходу пациента. Поэтому в последнее время все большее внимание уделяется оценке возможностей одновременного принятия нескольких лекарственных препаратов с учетом организма пациента.

- *Вид лекарственной формы и пути введения.* Этот фактор оказывает влияние на скорость всасывания, лекарственных веществ, их концентрацию в биожидкостях, характер распределения в тканях и органах. Выбор лекарственной формы одновременно определяет и способ введения лекарственной формы в организм. Эффективность лекарственного вещества зависит от того, как оно попадает в кровь. При ректальном способе введения часть лекарственных веществ проникает в русло в кровяное русло, минуя печень, иные лекарственные вещества при пероральном пути введения подвергаются химическому воздействию ее ферментов, а также желудочного сока, желчи и сока поджелудочной железы [22].

Следовательно, сила воздействия лекарственного вещества при ректальном пути введения больше чем при пероральном применении. При выборе пути введения учитывается также, какой характер действия ожидается от лекарственного вещества. Оптимальная активность лекарственного вещества

достигается только назначением его в рациональной, научно обоснованной форме.

Установление точной дозировки

- *Фармацевтическая технология* во многом обуславливает качество препарата, в том числе его терапевтическую эффективность. Процесс превращения исходных лекарственных веществ в лекарственный препарат – это, прежде всего, технологический процесс. Способ получения лекарственных препаратов во многом определяет стабильность препарата, скорость его высвобождения из лекарственной формы, интенсивность его всасывания и конечную его терапевтическую эффективность.

- *Определение роли физиологических факторов, свойственных отдельным лицам.* На некоторых зарубежных предприятиях разработана технология оценки возможности использования, того или иного лекарственного вещества или группы веществ или группы веществ по анализу крови пациента.

1.9 Элементы фармакокинетики

Фармакокинетика – область науки, изучающая движение лекарств в организме. Содержание предмета составляет изучение количественных и качественных изменений лекарственных веществ в крови, других жидкостях организмах и органах, а также изучение механизмов, обуславливающих эти изменения.

Стадии движения лекарственного вещества в организме:

- высвобождение из лекарственной формы (либерация);
- всасывание лекарственных веществ (абсорбция);
- распределение лекарственных веществ в организме;
- биотрансформация (метаболизм);
- выведение лекарственных веществ в организме (элиминация) [21].

Первой стадией является путь введения лекарственного препарата – пероральный, ректальный, нанесение на кожу или слизистую оболочку, инъекционный. На этой стадии лекарственное вещество должно высвободиться из формы, в которую облачено, и пройти путь до назначенного места всасывания.

На второй стадии лекарственное вещество, перешедшее в биологическую жидкость или ткань, всасывается, подчиняясь законам диффузии. На кинетику диффузии оказывает влияние как фармацевтические, так и физиологические факторы. К числу первых относят влияние сопровождающих веществ (Например, поверхностно – активные вещества), повышающие кинетику диффузии, а также влияние технологических факторов на скорость растворения

веществ, находящихся в них. Кинетика диффузии одновременно зависит от свойств и состояние клеточных мембран, ферментной активности клетки. [22]

Большое значение для всасывания имеют, несомненно, такие физиологические факторы, как возраст, пол и состояние организма. Физиологическим факторам принадлежит основная роль на третьей стадии всасывания, когда лекарственное вещество или его метаболиты распределены в организме – в кровяном русле или тканях [21].

На заключительной стадии движения лекарственного вещества в организме доминирующим являются биохимические факторы, обуславливающие биотрансформацию лекарственных веществ и их метаболитов и элиминацию (выведение) конечных веществ из организма через почки, ЖКТ, легкие, потовые железы. Анализируя схему пути введения лекарственного в организме, нетрудно представить, что количественная сторона процесса абсорбции лекарственных веществ лимитируется, прежде всего, эффективностью их высвобождения на начальной стадии абсорбции.

Рассмотрим каждую из стадий движения лекарственного вещества в организме более подробно [21].

1) Всасывание (абсорбция) лекарственных веществ

Под всасыванием, или абсорбцией понимают восприятие лекарственного вещества кровью или лимфой с пограничных поверхностей тела после его высвобождения из лекарственной формы. Для осуществления процесса всасывания лекарственного вещества, если оно вводится не внутрисосудисто, необходимо два условия: [21].

- действующий ингредиент лекарства должен высвободиться из лекарственной формы;

- высвобожденное вещество должно достигнуть поверхности всасывания.

Дальнейший транспорт ЛВ осуществляется пассивным путем (диффузия или конвекция) и активным путем (функция тканей и организма) [22].

Кинетика высвобождения действующего из лекарственной формы в полной мере зависит от фармацевтических факторов. Дальнейший транспорт ЛВ зависит от вида, строения, физиологического состояния слизистых оболочек, кожных покровов, мышечной ткани.

Действие ЛВ представляет собой результат его взаимодействия с клетками соответствующих тканей того или иного органа и в конечном счете, всего организма. Следовательно, первый этап транспорта молекул с поверхности всасывания начинается с проникновения его через клеточную мембрану. Этот вид транспорта ЛВ, может протекать путем диффузии и конвекции.

Диффузия

Движущая сила этого процесса – разность концентраций ЛВ с внешней и внутренней стороны мембраны.

Конвекция. Перенос растворимых молекул осуществляется под влиянием движения растворителя. Интенсивность и направленность движения определяется разницей давления растворителя между внешней и внутренней стороной мембраны.

Активный транспорт крупных и труднорастворимых молекул ЛВ (гормоны, ферменты) внутрь клетки может проходить с помощью движения мембраны и образования вокруг них ультрамикроскопических вакуолей. Такой механизм называется пиноцитоз.

На всасывание препаратов в желудочно – кишечном тракте влияют следующие факторы:

- Характеристика препарата:

- 1) время распадаемости таблетки;
- 2) время растворения лекарственного вещества;
- 3) метаболизм лекарственного вещества кишечной микрофлорой.

- Характеристика пациента:

1) рН в просвете желудка и кишечника – пониженная кислотность желудочного сока приводит к замедлению опорожнения желудка, что сопровождается замедлением всасывания ЛВ в кишечнике. Кроме того, рН содержимого желудка и кишечника влияет на степень ионизации молекул лекарственного соединения, что во многом определяет скорость всасывания;

2) время опорожнения желудка;

3) время прохождения пищи через кишечник;

4) площадь поверхности ЖКТ – чем больше площадь всасываемой поверхности, тем выше скорость абсорбции лекарственных препаратов;

5) заболевания ЖКТ;

6) кровоток в кишечнике.

- Присутствие в ЖКТ других субстанций:

1) другие препараты;

2) ионы;

3) пища – наличие пищи в желудке приводит к замедлению продвижения и уменьшению всасывания ЛВ в кишечнике. Замедление всасывания в ЖКТ может привести к ослаблению терапевтического эффекта препарата, так как не создается оптимальная концентрация ЛВ в крови [21].

Пероральный прием введения лекарственных веществ является наиболее привычным и распространенным. Недостаточная абсорбция ЛВ из ЖКТ часто объясняется малой стабильностью. Но меньшее значение должно придаваться также взаимодействию лекарств с компонентами пищеварительного тракта – муцином, энзимами и различными протеинами.

Распределение лекарственных веществ в организме.

Процесс распределения лекарственных веществ - это поступление препаратов из системного кровотока в различные органы и ткани. Под этим процессом понимается распределение лекарственных веществ как в транспортирующих средах – *дистрибуция*, так и в организме в целом – *инвазия*.

Лекарственные вещества, поступившие в кровь любыми путями, находятся в растворенном состоянии в солевом составе крови, как в свободном, так и в связанном состоянии с элементами крови, белками, липопротеинами. Лекарственные вещества разносятся кровью по всему организму, и равномерно распределяются во всем объеме крови до установления состояния подвижного равновесия в соответствующем органе. Через органы с интенсивным кровообращением (сердце, легкие, мозг, печень) протекает большое количество крови, и соответственно будет больше протекать ЛВ [21,22].

Рассмотрим, каким путем достигается лечебный эффект.

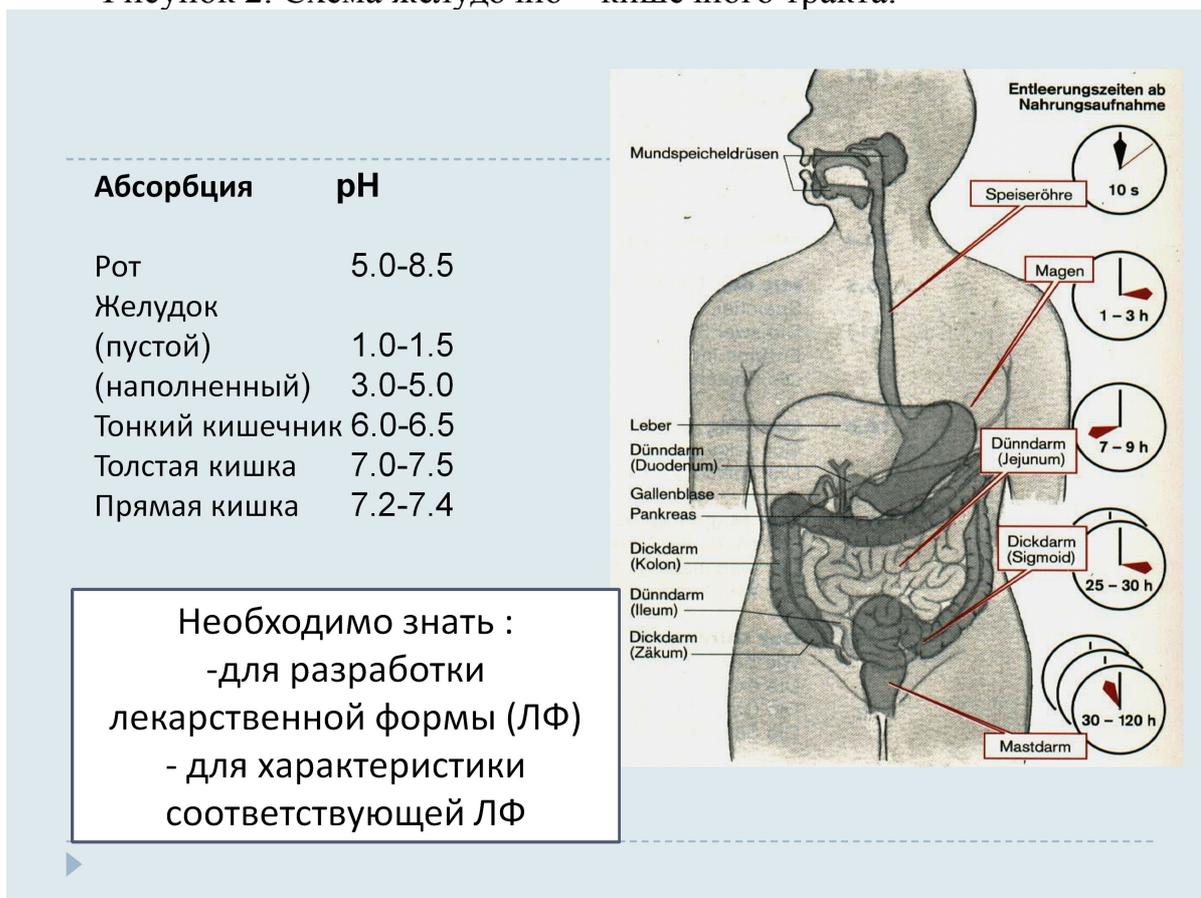
Действие ЛВ наступает после прохождения следующих стадий:

1. Высвобождение ЛВ из лекарственной формы;
2. Переход ЛВ в биологическую жидкость и его всасывание;
3. Распределение ЛВ между кровью, межклеточной жидкостью и клетками тканей;
4. Поступление молекул ЛВ в целевой орган и связывание с белком-мишенью.

Организм человека является совершенным устройством, позволяющим защитить себя от повреждения чужеродными веществами. Природа предусмотрела 3 барьера, ограничивающих поступление химических веществ:

- а) Селективная проницаемость стенок желудочно-кишечного тракта;
- б) Разрушение чужеродных молекул гепатоцитами печени;
- в) Селективная проницаемость гистогематической системы.

Рисунок 2. Схема желудочно – кишечного тракта.



Лекарственное средство при пероральном приеме сначала поступает в желудок, где находится около 1 часа в среде желудочного сока при pH около 2-3. Это приводит к разрушению кислотонеустойчивых лекарственных средств. Затем вещества поступают в кишечник. Слизистая оболочка кишечника имеет бархатистую поверхность, образованную мельчайшими выростами- кишечными ворсинками, длина которых составляет 0,2 – 1,2 мм. Наличие складок и многочисленных ворсинок на их поверхности обуславливает громадную площадь поверхности слизистой оболочки тонкой кишки. [22]

Это способствует эффективному пристеночному всасыванию ЛВ. Поверхность ворсинок образована одним слоем клеток эпителия тонкой кишки. Ворсинки имеют хорошо развитую сеть кровеносных и лимфатических сосудов. В кровеносные и лимфатические сосуды ворсинки всасываются ЛВ, и поступают в портальную вену. Барьером на пути лекарств в кишечнике является селективное всасывание и разрушение части веществ пищеварительными ферментами.

Затем через воротную вену ЛВ поступает в печень. Печень участвует в метаболизме всех питательных веществ, пищеварении, синтезе и резервировании ряда необходимых организму веществ, расщеплении, детоксикации и экскреции ненужных или вредных для организма субстанций, кроветворения и осуществления ряда других функций.

В ворота печени входят собственная печеночная артерия и воротная вена.

Прохождение веществ через печень сопровождается многочисленными биохимическими реакциями. Оставшиеся вещества поступают в нижнюю полую вену, затем в правое предсердие и как следствие, в системный кровоток. Если ЛС снова попадает в печень, то происходит дополнительное его разрушение. Попадая в системный кровоток, лекарственное средство начинает распределяться по различным органам и тканям организма. Естественно, что в его распределении в организме большое значение имеет интенсивность кровоснабжения органов и тканей.

При поступлении в кровяное русло лекарство, прежде всего, достигает хорошо кровоснабжаемых органов – сердце, мозг, легкие, печень, почки, а затем уже происходит их перераспределение по так называемой водной фазе организма, в том числе и по тканям с относительно замедленным кровотоком – скелетной мускулатуре, подкожной клетчатке, костной ткани [21].

Для наступления специфического действия ЛВ необходимо достижение минимальной его концентрации в организме, которая определяется как минимальная лечебная доза (начальная доза). Дальнейшее усиление реакции организма на введенное лекарственное вещество будет зависеть от увеличения его количества до эффективной лечебной дозы и от того, как долго избранная лекарственная форма сможет обеспечить стабильную концентрацию лекарственного вещества.

Главным результатом процесса распределения ЛВ является поступление лекарственных препаратов к месту действия, где в зависимости от механизма действия они проявляют свою биологическую активность.

Кинетика содержания препарата в крови. Длительность лечебного эффекта коррелирует с продолжительностью циркуляции лекарственного вещества в плазме. Основные фармакокинетические параметры содержания вещества в крови: время достижения и высота максимального уровня (пик), скорость и характер снижения концентрации, длительность циркуляции в определенных концентрациях.

Кинетика содержания препарата в тканях. Основные параметры – величина и время достижения максимального уровня лекарственного вещества в ткани, скорость и характер снижения концентраций, длительность поддержания определенных концентраций, величина концентрационного градиента (отношение концентрации вещества в ткани к содержанию его в

крови) в ранние сроки после его введения, а также изменение этого показателя во времени.

На распределение лекарственного вещества в организме влияют следующие факторы:

- Свойства организма – барьеры
 - гематоэнцефалитический – физиологический механизм, ограничивающий доступ химических веществ к нейронам и клеткам внутри мозга
 - гематоофтальмический – гистогематический барьер между кровью и водянистой влагой глаза
 - капсула предстательной железы
 - клеточные мембраны
- Свойства препарата: растворимость в жирах и др.
- Доза препарата

Наиболее просто устроен барьер между кровью и внеклеточной жидкостью, то есть собственно гистогематический барьер. В качестве гистогематического барьера выступают стенки капилляра, которые разграничивают плазму крови и межклеточную жидкость [22].

Стенка капилляров представляет липидопористую мембрану, пронизанную порами. В артериальном отделе капилляров давление крови происходит осмотическое. Именно в этом отделе капилляров происходит выход в ткани водорастворимых веществ, находящихся в плазме крови, в том числе ЛС. В венозном отделе капилляров давление меньше, чем осмотическое интерстициальной жидкости, что и обуславливает переход в обратном направлении.

Через липидный слой стенки капилляров легко проходят все жирорастворимые ЛС, тогда как водорастворимые ЛС преодолевают гистогематический барьер через поры, пронизывающие стенки капилляров.

В отличие от гистогематического барьера гематоэнцефалитический барьер – барьер между кровью и тканями мозга – практически непроницаем для водорастворимых ЛС, что обусловлено особенностями его структурно-функционального строения.

Капилляры мозга по своему строению принципиально отличаются от капилляров, локализованных в других областях организма, отсутствием в их стенке каналов, обуславливающих прохождение через стенку капилляров водорастворимых соединений. Эндотелиальные клетки, образующие капилляры мозга, соединены между собой плотными контактами, которые не позволяют водорастворимым веществам перемещаться из крови в ткани мозга и обратно. Помимо этого наружную поверхность капилляров мозга охватывают отростки астроцитов (разновидности клеток нервной системы). Астроциты выполняют роль опорной структуры в нервной ткани. Полагают, что эти отростки не

составляют механические препятствия для проникновения в мозг водорастворимых ЛС, однако выделяемые астроцитами вещества повышают плотность контактов между эндотелиальными клетками капилляров мозга [22].

Липофильные, то есть жирорастворимые вещества в отличие от водорастворимых легко проникают через гематоэнцефалический барьер посредством простой диффузии. В результате ЛВ проникает сначала в межклеточное пространство, а затем преодолев барьер клеточной мембраны, посредством простой диффузии или активного транспорта, непосредственно в клетку.

В клетках ЛС накапливается непосредственно в местах расположения определенных ферментов, реагирует с ключевыми молекулами, изменяя их структуру, влияя на биохимические процессы [22].

1.10 Биотрансформация (метаболизм)

Метаболизм (изменение) – это сумма химических превращений, которые претерпевает лекарственное вещество в организме. В большинстве случаев биотрансформация сопровождается образованием метаболитов, менее активных или полностью лишенных активности, присущей исходному соединению. В большинстве случаев химические превращения лекарств осуществляются в печени, но ферменты, принимающие участия в их метаболизме, могут также находиться в крови или тканях. Биотрансформация лекарственных веществ в организме характеризуется кинетикой содержания их метаболитов в плазме крови, моче, желчи и тканях [21].

Биотрансформация лекарственных веществ осуществляется в основном в две фазы

В результате биохимических реакций биотрансформации препаратов фазы I происходит химическая модификация молекулы ЛВ. В результате чего образуются соединения, обладающие различной биологической активностью, а именно:

- не обладающие фармакологической активностью;
- обладающие фармакологической активностью;
- приобретающие фармакологическую активность из пролекарств (химически модифицированная форма лекарственного вещества – эфир, соль, соль эфира и т.д – которая в биологических средах в результате метаболических процессов превращается в само лекарственное средство, приобретающее токсические свойства)

Таким образом, в фазе I биотрансформации лекарственных веществ происходит синтез как активных, так и неактивных соединений.

Фаза II биотрансформации характеризуется образованием, как правило фармакологически неактивных соединений [22].

Выведение лекарственных веществ из организма (элиминация)

Заключительным этапом движения лекарственного вещества в организме является выведение его или метаболитов из крови. Процесс этот носит название элиминация. Осуществляется она двумя путями :

- за счет почечного выделения
- путем экстраренальной экскреции (внепочечное выделение).

Почечная экскреция – наиболее распространенный вид элиминации ЛВ. Многие вещества выводятся преимущественно с мочой, где их концентрация значительно превышает таковую в плазме крови. Ультрафильтрация в клубочках почек является необходимым этапом экскреции всех циркулирующих в крови веществ. Некоторые вещества могут подвергаться обратному всасыванию в почечных канальцах, что способствует более длительной циркуляции вещества в организме. Другие препараты, наоборот, обладают способностью секретироваться в канальцах почек, что соответственно ускоряет их элиминацию.

Внепочечная экскреция играет, как правило, вспомогательную роль в элиминации веществ из организма. Однако для некоторых препаратов, в частности антибиотиков, выведение из организма с желчью может иметь решающее значение. Экскретированные в просвет кишечника соединения часто способны вновь всасываться в кровь. Образующийся таким образом кишечно-печеночный круговорот является фактором, способствующим удлинению циркуляции препарата в организме. Другие пути внепочечной экскреции – выделение со слезами, слюной [22].

1.11 Биодоступность

При внутрисосудистом введении лекарственное вещество полностью попадает в кровеносное русло. При пероральном, внутримышечном, подкожном введении оно должно пройти через ряд биологических мембран клеток. Действие препарата во многом зависит от того, насколько велика эта часть. Этот показатель характеризует биодоступность препарата [21].

Биодоступность фактически характеризует качество лекарства. Мерой биологической доступности служит отношение (в %) количества ЛВ, поступившего в кровоток, назначенного в исследуемой лекарственной форме, к количеству того же ЛВ назначенного в той же дозе, но в виде стандартной лекарственной формы [23].

Стандартной лекарственной формой является внутривенная инъекция, как обеспечивающая немедленное и полное поступление ЛВ в большой круг

кровообращения. Таким путем определяется абсолютная биодоступность. Для определения относительной биодоступности стандартными формами служит раствор или другая лекарственная форма для приема внутрь, которая хорошо всасывается [23].

Биодоступность – характеристика лекарственных препаратов, описывающая способность действующего начала (лекарственного вещества) доходить до места его действия в неизменном виде и определяющая выбор оптимальной дозировки. Кроме химических и физико-химических свойств ,биодоступность зависит от способа введения препарата (обычно при парентеральном введении она выше , чем при приеме внутрь) [23].

На биодоступность лекарственного вещества влияют путь введения препаратов организм, индивидуальные особенности организма больного, состояние желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, печени, почек, а также биофармацевтические факторы (лекарственная форма, ее состав, особенности технологии производства), которые особенно важны в применении лекарственных форм внутрь в виде таблеток или капсул. Вспомогательные вещества, входящие в состав лекарственного препарата также влияют на биодоступность препарата. Для прессования таблеток и наполнения капсул используют вещества, которые могут отрицательно повлиять на скорость растворения действующего соединения. Растворению лекарственных веществ может препятствовать низкая диспергирующая способность частиц наполнителя, а их дезагрегации способствуют поверхностно-активные вещества.

Относительную биодоступность определяют для различных серий препаратов, для лекарственных средств при изменении технологии производства. Обычно относительную биодоступность измеряют при одном и том же пути введения лекарственных препаратов. Показатель относительной биодоступности имеет большое практическое значение. В клинической практике уже давно отмечено, что препараты, содержащие одни и те же лекарственные вещества, но выпускаемые различными фармацевтическими фирмами, существенно различаются как по терапевтической эффективности, так и по частоте возникновения и выражения побочных эффектов [23].

В большинстве случаев различия эффективности препаратов, содержащих одни и те же активные вещества, обусловлены изменением их биодоступности – количества лекарственного вещества, которое попадает в системный кровоток, и скорости, с которой этот процесс происходит. В связи с этим возникло новое понятие – биоэквивалентность. Лекарственные препараты называют биоэквивалентными в тех случаях, когда они обеспечивают одинаковую концентрацию действующего вещества в крови и тканях организма [21,22].

При изучении биоэквивалентности лекарственных препаратов наиболее важным являются фармакокинетические параметры :

- максимум концентрации лекарственного вещества в крови
- время достижения максимальной концентрации ЛВ в крови
- площадь под фармакокинетической кривой – кривая концентрации ЛВ в плазме или крови

Внедрение определения биоэквивалентности как метода позволяет сделать обоснованное заключение о качестве, эффективности безопасности сравниваемых препаратов. Так изучение биоэквивалентности проводят , если существует риск отсутствия биоэквивалентности или существует риск снижения фармакотерапевтическойго действия и клинической безопасности препарата. Обязательно оценивают :

- препараты для лечения состояний, при которых необходим гарантированный терапевтический эффект
- препараты с узким терапевтическим коридором безопасности
- препараты с неудовлетворительными физико-химическими свойствами (низкая растворимость, нестабильность)

Определение биологической доступности препаратов.

Биологическую доступность можно определять у здоровых людей – добровольцев. Испытания стремятся проводить на моделях – на животных (*in vivo*) и путем постановки тестов (*in vitro*). Одна из основных задач экспериментальной биофармации состоит в том, чтобы разработать такие тесты *in vitro* и такие тесты *in vivo* , которые позволили сопоставлять полученные результаты с результатами исследований человека и были бы значимыми благодаря выявленной бесспорной корреляции. Такие тесты и модели открывают широкие возможности не только для установления биодоступности при разработке нового лекарства и изучения отдельных фармацевтических факторов, но и при текущем контроле качества лекарств.[23]

Методы *in vitro* позволяют судить о биологической доступности лекарственного вещества по его конкретному количеству, высвободившемуся из той или иной лекарственной формы. Метод определения скорости растворения ЛВ может рассматриваться как основной метод определения эффективности высвобождения растворимых ЛВ из лекарственных форм.[22]

Метод определения эффективности высвобождения ЛВ применим для всех пероральных и формированных лекарственных форм (тест – растворение). В основе метода лежит принцип дезинтеграции лекарственной формы(механического разрушения) и диффузии включенного в нее лекарственного вещества в растворяющую среду. При этом анализируется количество лекарственного вещества, диффундирующего из целых или распавшихся лекарственных препаратов) например таблеток в растворяющую

жидкость. Растворяющей средой может быть вода или иная жидкость (раствор соляной кислоты, буферные растворы), имитирующие ту или иную биологическую жидкую среду (желудочный сок, кишечный сок). При этом используется прибор, который предназначен для определения скорости высвобождения лекарственного вещества из лекарственной формы методом «качающейся корзинки» [2].

Прибор состоит из 6 стаканов с растворяющей средой. Внутрь стакана вводится сетчатая корзинка с испытуемым препаратом. С помощью управляющих кнопок на панели задается следующие параметры теста: температура растворяющей среды, частота качания корзинок и время проведения процесса. Через установленные интервалы времени отбирают пробы для аналитического определения содержания ЛВ. Исследуемая лекарственная форма соответствует требованиям на скорость высвобождения в том случае, если за установленные интервалы времени из нее перешло в раствор требуемое количество лекарственного вещества.

В опытах *in vivo* определяют содержание ЛВ или метаболитов в крови или интенсивность выделения их из организма животных.

Знание основ биофармации во взаимосвязи с фармакокинетикой

- позволяет выявить оптимальные пути введения лекарственного препарата в лечебной практике

- дает возможность уточнить показания и противопоказания к применению ЛВ.

- облегчает, и ускоряет направленный поиск новых препаратов с желаемыми закономерностями распределения в организме, с более высокой или более широкой активностью

- позволяет обосновать применение фармацевтических факторов в производстве лекарств. Особого внимания заслуживает связь между фармакокинетикой и поиском новых лекарственных форм, модернизацией ныне применяемых, а также пролонгированием и стабилизацией лекарств [21].

1.12 Основные понятия и классификация лекарственных форм

Современная технология лекарственных веществ уходит своими корнями в далекое прошлое.

Фармацевтическая технология охватывает различные аспекты производства фармацевтических препаратов, включая сырье, материалы, оборудование, условия производства, помещения, персонал, хранение фармацевтических препаратов.

Технология лекарственных форм – наука о теоретических основах и производственных процессах переработки лекарственных средств в лекарственные препараты путем придания им лекарственной формы.

Основными задачами технологии лекарственных форм :

- разработка теоретических обоснований и поиск путем интенсификации существующих методов изготовления лекарственных форм.
- разработка технологических основ и методов производства новых лекарственных субстанций и препаратов , в которых максимально проявляется лечебный эффект, минимально побочное действие и которые удобны при использовании больными
- изучение эффективности технологического процесса

Исходным среди базовых понятий технологии лекарственных форм является фармакологическое средство .

Фармакологическое средство представляет собой вещество или смесь веществ с установленной фармакологической активностью.

Лекарственное средство (ЛС) – это фармакологическое средство, разрешенное для применения с целью лечения, предупреждения или диагностики заболевания у человека или животного.

Лекарственная форма – это придаваемое лекарственному средству удобное для применения состояние (порошок, раствор, мазь, таблетки, капсулы), при которых достигается необходимый лечебный эффект. Изготовление лекарственных форм из лекарственных средств обычно сопровождается приданием им определенных геометрических форм, которые подбираются таким образом, чтобы обеспечить максимальное терапевтическое действие средства и удобство применения.

Большое значение имеет правильный выбор лекарственной формы . Она должна обеспечить максимальный терапевтический эффект, иметь минимальное побочное действие и быть удобной для пациента. Правильно подобранная лекарственная форма обеспечивает более быстрое и сильное действие ЛВ, а неудачно подобранная – снижает эффект, а иногда вызывает ухудшение состояния больного.

Лекарственный препарат – это лекарственное средство в виде определенной лекарственной формы. Это готовый упакованный продукт, который используется с лечебной или профилактической целью.

Для лекарственных препаратов установлены дозы – определенные количество лекарственного средства вводимого в организм. Среди терапевтических доз можно выделить

- разовые дозы – назначают на один прием
- суточные дозы – доза препарата, назначаемая в течении суток
- курсовые дозы – количество лекарственного вещества

Пути введения лекарственных средств

В зависимости от пути введения все лекарственные формы делят на две большие группы: энтеральные (через пищеварительный тракт) и парентеральные (минуя пищеварительный тракт).

К энтеральным относят следующие пути введения лекарственного вещества:

Через рот – перорально, под язык- сублингвально, через прямую кишку – ректально.

Наиболее старый и распространенный способ – пероральный. Это наиболее простой и удобный путь введения. Через рот удобно принимать как твердые, так и жидкие лекарственные формы. Поэтому этот путь введения не может быть использован при оказании быстрой лечебной помощи. При пероральном приеме необходимо учитывать следующие факторы, влияющие на поступление во внутреннюю среду организма:

- физико-химические свойства лекарственного вещества и лекарственной формы : растворимость в воде и липидах, молекулярная масса, вкус и запах
- функциональное состояние ЖКТ : кислотность, активность ферментов в желудке и кишечнике, заболевания ЖКТ
- метаболизм лекарственного вещества в стенке кишечника и под влиянием микрофлоры
- взаимодействие лекарственного вещества в стенке кишечника и под влиянием микрофлоры
- взаимодействие лекарственного вещества с с одержимым желудка и кишечника

Парентеральные способы введения отличаются большим разнообразием. Это нанесение на кожу и легкодоступные слизистые оболочки, инъекционные и ингаляционные пути введения лекарственных средств.

Задачей технологии лекарственных форм является создание рациональных лекарственных форм, которые обеспечивают полноту действия.

В связи с этим эффективность лечения зависит от лекарственной формы, к ней предъявляются следующие общие требования:

- соответствие лечебного назначению, биодоступность лекарственного вещества в данной лекарственной форме и соответствующая фармакокинетика
- равномерность распределения лекарственных веществ в массе вспомогательных ингредиентов и отсюда точность дозирования
- стабильность в процессе хранения
- соответствие нормам микробной контаминации, при необходимости консервирование

- удобство приема, возможность исправления неприятного вкуса
- компактность

Лекарственная форма представляет собой систему, состоящую из лекарственного вещества и вспомогательных веществ.

1.13 Вспомогательные вещества

– это дополнительные вещества, необходимые для приготовления лекарственного препарата.

Создание эффективных лекарственных препаратов требует применения большого числа вспомогательных веществ.

До недавнего времени к вспомогательным веществам предъявляли требования фармакологической и химической индифферентности. Однако выяснилось, что

Что эти вещества могут в значительной степени влиять на фармакологическую активность лекарственных веществ: усиливать действие или снижать их активность.

Вспомогательные вещества оказывают влияние на высвобождение лекарственных веществ, усиливая ее или замедляя, то есть при использовании вспомогательных веществ можно регулировать фармакодинамику лекарственного вещества и фармакокинетику.

Вспомогательные вещества могут целенаправленно влиять на терапевтический эффект лекарственных веществ, а именно контролировать степень и время высвобождения ЛВ из лекарственного препарат, а также избирательно растворяться в любом месте ЖКТ и доставлять активное вещество в определенный отдел ЖКТ.

Вспомогательные вещества оказывают влияние не только на терапевтическую активность лекарственного вещества, но и на физико-химические характеристики лекарственных форм в процессе изготовления и хранения.

Вспомогательные вещества являются обязательными ингредиентами почти всех лекарственных препаратов и при использовании вступаю в контакт с органами и тканями организма, поэтому к ним предъявляются определенные требования:

- обеспечение проявления надлежащего фармакологического действия лекарственного средства с учетом его фармакокинетики. Вспомогательные вещества не должны оказывать влияния и изменять биодоступность лекарственного средства
- вспомогательные вещества должны придавать лекарственной форме требуемые свойства : структурно-механические, физико-химические. Они не

должны оказывать отрицательного влияния на вкус, запах, цвет, лекарственных препаратов

- отсутствие химического или физико-химического взаимодействия с лекарственными веществами

По своей природе вспомогательные вещества можно разделить на *природные, синтетические и полусинтетические*.

Вспомогательные вещества природного происхождения получают путем переработки растительного и животного сырья, сырья микробного происхождения и минералов. *Природные* имеют преимущество благодаря высокой биологической безвредности. Но они имеют существенный недостаток – подверженность воздействию микробов.

Синтетические и полусинтетические находят широкое применение в технологии лекарственных форм. Этому способствует их доступность, то есть возможность синтеза веществ с заданными свойствами, более эффективными и токсическими. При получении полусинтетических вспомогательных веществ имеется возможность совершенствования свойств природных веществ.

Вспомогательные вещества в зависимости от их влияния на физико-химические характеристики и фармакокинетику лекарственных форм делятся на следующие группы: формообразующие, стабилизирующие, пролонгирующие, солюбилизующие, корригирующие.

Формообразующие вещества.

Эта группа вспомогательных веществ используется в качестве дисперсионных сред (вода или неводные среды – этанол, глицерин) и технология жидких лекарственных форм. Формообразующие вещества дают возможность изготовить лекарственные формы, исходя из агрегатного состояния, создавать необходимую массу или объем, придавать определенную форму и обеспечивать другие требования, предъявляемые к лекарственным формам.

Стабилизирующие вещества

Стабильность – свойство лекарственных веществ сохранять физико-химические и микробиологические свойства в течении определенного времени с момента выпуска. Стабилизацию лекарственных препаратов следует рассматривать как весьма актуальную комплексную проблему в целом: устойчивость лекарственных форм, устойчивость лекарственных веществ и устойчивость лекарственных препаратов к микробной контаминации.

Пролонгирующие вещества

Вспомогательные вещества, увеличивающие время нахождения ЛВ в организме. Использование пролонгирующих лекарственных форм вызвано

отрицательными явлениями, возникающими при быстром выведении ЛВ из организма или быстром разрушении ЛВ в организме.

Поэтому вводят вещества, однократный прием которых бы сохранял бы в организме терапевтически активную концентрацию ЛВ в течение длительного или заданного времени, а также обеспечивал бы поступление ЛВ с заданной скоростью.

Установлено, что пролонгирование действия лекарственных веществ зависит от уменьшения скорости высвобождения ЛВ из лекарственной формы, инактивации лекарственных веществ ферментами и скорости высвобождения ЛВ из организма. Для пролонгирования компонентов, помимо других требований, предъявляемых к вспомогательным веществам, также необходимо поддержание оптимального уровня лекарственного вещества в организме и отсутствие резких колебаний его концентрации. Максимум концентрации лекарственного вещества в крови прямо пропорционален введенной дозе, скорости всасывания и обратно пропорционально скорости выведения вещества из организма.

Корректирующие вещества – группа вспомогательных веществ, применение которых дает возможность исправлять цвет, вкус, запах различных лекарственных препаратов. В качестве подсластителей используют сахарозу, лактозу, фруктозу, сорбит, сахарин. Наиболее перспективным является сорбит, который еще выступает в роли консерванта.

Необходимо отметить, что использование вспомогательных веществ позволяет разрабатывать лекарственные формы с необходимыми физико-химическими свойствами, повышать агрегативную устойчивость различных дисперсных систем и предотвращать разложение лекарственных веществ, регулировать процессы высвобождения, распределения и всасывания при различных путях введения.

Применение вспомогательных веществ представляет актуальную проблему современной технологии лекарственных форм, получение же новых вспомогательных веществ позволит создавать принципиально новые высокоэффективные лекарственные формы, удобные для применения и имеющие достаточно длительные сроки годности.

Таблетки как лекарственная форма

Таблетка – дозированная лекарственная форма, получаемая прессованием лекарственных или смеси лекарственных и вспомогательных веществ, предназначенная для внутреннего, сублингвального или парентерального введения.

Таблетки обладают рядом преимуществ перед другими лекарственными формами :

- точность дозирования

- портативность таблеток, обеспечивающая удобство отпуск хранения, и транспортировки лекарственной формы
- сохранность лекарственных веществ в спрессованном состоянии. Для недостаточно устойчивых веществ нанесения защитных оболочек
- маскировка неприятных органолептических свойств лекарственных веществ (вкус, запах, красящая способность)
- локализация действия лекарственного вещества в определенном месте ЖКТ путем нанесения оболочек, растворимых в кислой или щелочной среде
- пролонгирование действия лекарственных веществ
- регулирование последовательного всасывания отдельных лекарственных веществ из таблетки сложного состава в определенные промежутки времени
- сочетание лекарственных веществ, несовместимых по физико – химическим свойствам

Но таблетки обладают и рядом некоторых недостатков

- при хранении таблетки могут терять свою распадаемость и цементироваться или разрушаться
- с таблетками в организм могут попадать вспомогательные вещества, вызывающие побочные свойства
- таблетки невозможно ввести в организм при рвоте или обморочном состоянии

- не все больные, особенно дети, могут свободно проглатывать таблетки

К таблеткам предъявляются следующие требования :

- точность дозирования однородность применения и распределения действующего вещества в таблетке , правильность веса как самой таблетки, так и входящих в ее состав лекарственных веществ
- механическая прочность – твердость, ломкость, хрупкость – характеризуют качество таблеток; таблетки должны обладать достаточной прочностью, чтобы оставаться неповрежденными при механических воздействиях
- распадаемость или растворимость

Точность дозирования зависит от однородности таблетлируемой массы, которая обеспечивается при тщательном перемешивании лекарственных и вспомогательных веществ и равномерном распределении их в общей массе. Точность дозирования также зависит от быстроты и безотказности заполнения матричного гнезда таблеточной машины. Если за короткое время пребывания воронки над матричным отверстием высыпается меньше материала, чем может принять матричное гнездо, масса полученных таблеток будет недостаточной.

Говоря об однородности материала имеют ввиду также однородность материала имеют ввиду его однородность по форме частиц. Очевидно, что

частицы, имеющие разное пространственное очертание примерно при одной и той же массе, будут размещаться в матричном гнезде.

Механическая прочность. Механическую прочность обуславливают взаимосцепляемость частиц. В начале прессования таблетлируемая масса уплотняется, происходит более тесное сближение частиц и создается условия для проявления сил межмолекулярного и электростатического взаимодействия. Механическая прочность зависит от величины давления в процессе прессования и важно проследить, как будет увеличиваться давление при прессовании.

Применение высокого давления при прессовании может отрицательно влиять на качество таблеток и способствовать износу таблеточных машин. Высокое давление можно компенсировать прибавлением веществ, обладающим большим дипольным моментом и обеспечивающих сцепляемость частиц при сравнительно небольших давлениях. Вода будет препятствовать связыванию частиц труднорастворимых и нерастворимых лекарственных препаратов.

Распадаемость. Таблетка должна обладать необходимой распадаемостью при достаточной механической прочности. Слишком высокая прочность таблетки влияет на ее распадаемость и высвобождение лекарственного вещества – время распадаемости возрастает, что отрицательно сказывается на качестве таблетки. Распадаемость зависит от ряда причин:

- от количества связывающих веществ: таблетки должны содержать такое количество, которое необходимо для достижения требуемой прочности.
- от давления прессования: чрезмерное давление ухудшает распадаемость таблетки;
- от качества разрыхляющих веществ, способствующих распадаемости таблеток
- от свойств веществ, входящих в таблетку, от их способности растворяться в воде, смачивать ею, набухать; таблетки с легкорастворимыми веществами будут распадаться быстрее и потребуются меньшее количество разрыхляющих веществ

Для создания таблеток необходимо определенные группы вспомогательных веществ:

Наполнители. Добавляют для получения определенной массы таблеток. При небольшой дозировке можно использовать с целью регулирования прочности, распадаемости. Наполнители определяют технологические свойства массы для таблетирования и физико-химические свойства готовых таблеток. Наиболее доступные крахмал, глюкоза, сахар. Наполнители, обладающие хорошей сыпучестью и прессуемостью, используются для прямого прессования.

Связующие вещества.

Частицы большинства ЛВ имеют небольшую силу сцепления между собой, поэтому их таблетирование требует применения высокого давления, которое отчасти является причиной несвоевременного износа пресс-инструмента таблеточных машин. Для достижения необходимой силы сцепления при сравнительно небольших давлениях к таблетлируемым веществам прибавляют связующие вещества. Их функция заключается в том, что заполняя межчастичное пространство, они увеличивают контактную поверхность частиц и когезионную способность.

Особое значение имеют связующие вещества при прессовании сложных порошков. В процессе работы таблеточной машины они могут расслаиваться, что приводит к получению таблеток с разным содержанием входящих ингредиентов. Функции связующих веществ могут выполнять различные вещества.

Воду применяют во всех случаях, когда простое увлажнение обеспечивает нормальную грануляцию порошкообразной массы.

Спирт этиловый используют для гранулирования гигроскопичных порошков, чаще всего тогда, когда в состав массы для таблетирования входит сухие экстракты из растительного сырья – это вещества с водой и водными растворами образуют клейкую, оплывающую, плохо гранулируемую массу.

Связующие вещества входят в таблетлируемую массу двумя способами: сухим и влажным. При влажном гранулировании существует правило: если требуется добавить небольшое количество увлажнителя, то связующие вещества вводят в виде раствора. Растворимость связующего вещества оказывает влияние на выбор способа его введения.

В качестве связующих применяют чистые растворители (вода, этиловый спирт), поскольку они частично растворяют таблетлируемый материал; а также желатин, повидон.

Исследования показали, что с увеличением концентрации раствора связующие вещества ухудшается распадаемость таблеток и скорость высвобождения лекарственного вещества.

Разрыхляющие вещества. При прессовании ЛВ резко уменьшается пористость, и тем самым затрудняется проникновение жидкости внутрь таблетки. Для улучшения распадаемости или растворения применяют разрыхляющие вещества, обеспечивающие механическое разрушение таблеток в жидкой среде, что необходимо для скорейшего высвобождения действующего вещества. Разрыхлители добавляют в состав таблеток также в том случае, если препарат нерастворим в воде или если таблетка способна цементироваться. Эффективность действия разрыхляющих веществ определяется тремя способами:

- путем определения скорости поглощения и количества поглощенной воды порошкообразной массой
- временем распадаемости таблеток, содержащих различные концентрации разрыхляющих веществ

- путем определения скорости набухания и максимальной водной емкости разрыхлителей с помощью высокоскоростной фотосъемки под микроскопом.

Скользкие вещества. Они устраняют или уменьшают поверхности частиц, устраняют или уменьшают шероховатость, повышая их текучесть. Наибольшей эффективностью скольжения обладают частицы, имеющие сферическую форму.

По своей природе скользкие вещества можно разбить на две группы :

- жиры и жироподобные вещества – парафин, стеараты кальция и магния
- порошкообразные вещества – тальк, крахмал, твин -80. Порошкообразные находят большее применение , чем жировые, поскольку последние влияют на растворимость и химическую стойкость таблеток. Порошкообразные скользкие вещества вводятся опудриванием гранулята.

Смазывающие вещества.

Облегчает выталкивание таблеток из матрицы. Их еще называют адгезионными или противосклеивающими веществами. Смазывающие вещества не только снижают трение на контактных участках , но и значительно облегчают деформацию частиц вследствие адсорбционного понижения их прочности за счет проникновения микроцели. Функция смазывающих веществ заключается в преодолении силы трения между гранулами и стенкой матрицы, между спрессованной таблеткой и стенкой матрицы в момент выталкивания таблеток нижним пуансоном из матрицы.[22]

Корректирующие вещества добавляют в состав таблеток с целью улучшения их вкуса, цвета, запаха. Корректирующие вещества имеют большое значение в медицинской практике. Установлено, что эффективное терапевтическое средство, имеющее неприятный вкус, у детей оказывает во много раз меньший эффект или вообще не оказывает лечебного действия. Необходимо учитывать возможность всасывания ЛВ из скорректированных лекарственных форм.

Из подслаивающих веществ – сахароза, лактоза, фруктоза, сорбит, сахарин. Наиболее перспективным является сорбит – заменитель сахарозы, который образует вязкие растворы, стабилизирует некоторые ЛВ.

Красители добавляют улучшения внешнего вида таблеток, а также для обозначения терапевтической группы лекарственных веществ. Кроме того, красители являются стабилизаторами светочувствительных лекарственных веществ. Красители разрешенные к применению в фармацевтике :

- минеральные пигменты (титана диоксид), которые используются в виде тонкоизмельченных порошков
- красители природного содержания (хлорофилл, каротиноиды), хотя они имеют следующие недостатки: низкая красящая способность, невысокая устойчивость к свету, окислителям и восстановителям, к изменению pH, температурным изменениям.
- синтетические красители: индиго (синего цвета), тартразин (желтый), кислотный красный, тропеолин, эозин [21].

Основные группы вспомогательных веществ

Группа	Вещество
Наполнители	Крахмал, глюкоза, сахароза, лактоза, метилцеллюлоза, МКЦ (целлюлоза микрокристаллическая),
Разрыхляющие: Набухающие	Крахмал пшеничный, картофельный, кукурузный,
Улучшающие смачиваемость и водопроницаемость	Крахмал пшеничный, картофельный, кукурузный
Связующие	Вода очищенная, спирт этиловый, крахмальный клейстер, желатин, альгиновая кислота, повидон
Скользкие	Крахмал, тальк, аэросил, твин-80
Смазывающие	Стеариновая кислота, кальция и магния стеарат
Корригенты	
Вкуса	Сахар, глюкоза, фруктоза, сахароза, ксилит, манит, сорбит, глицин
Запаха	Эфирные масла, концентраты фруктовых соков, ментол, ванилин
Цвета	Индигокармин, тартразин
Красители	Тропеолин, эозин, хлорофилл, титана двуокись

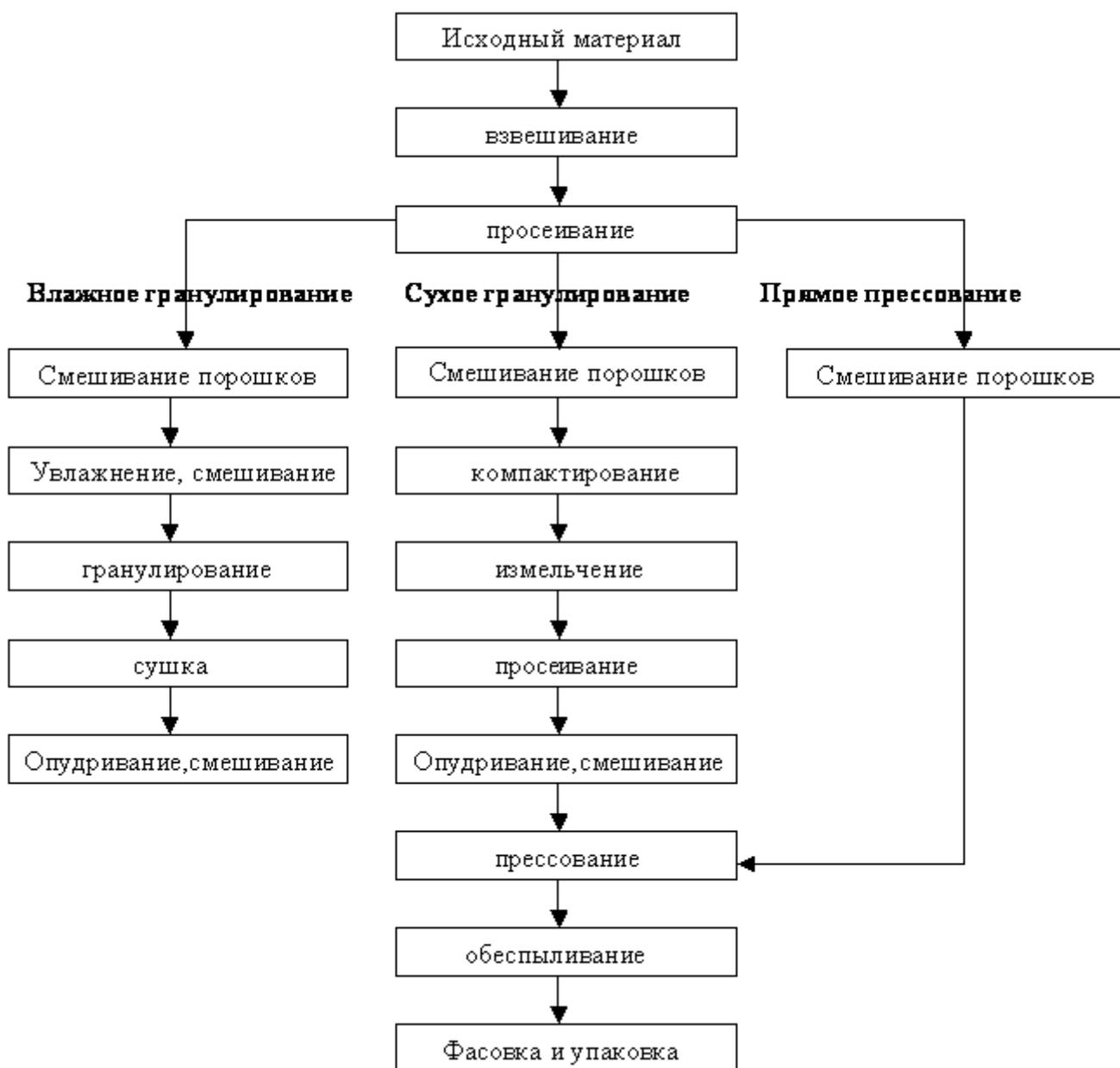
Стадии подготовки для производства таблеток.



Для большинства фармацевтических препаратов технология производства таблеток состоит из следующих операций : взвешивания исходного материала, измельчения, просеивания, нанесение покрытия [21].

Наиболее распространены три общие технологические схемы получения таблеток: с применением влажной грануляции, сухой грануляции, и прямого прессования. Выбор оптимальной технологической схемы производства таблеток зависит от физико-химических и технологических свойств лекарственных средств их количества в таблетке , устойчивости к воздействию факторов внешней среды и прочих факторов.

Схема 1. Стандартные типовые схемы фармацевтического производства.



Взвешивание

Эта стадия является начальной при производстве твердых лекарственных форм и осуществляется в специальными приборами для взвешивания компонентов.

Измельчение

Под измельчением понимают механический процесс деления кусков твердых веществ на более мелкие или превращение их в порошок , в результате чего значительно увеличивается поверхность обрабатываемого материала. Цели измельчения состоят в следующем:

- обеспечить быстрый терапевтический эффект за счет уменьшения размера частиц и увеличения количества вещества
- получить равномерную порошковую смесь
- обеспечить точность дозирования при разделении массы порошка на отдельные дозы;

Просеивание

Процесс разделения смеси зерен различных размеров при помощи сит на две и более группы

Назначение сит в следующем :

- гомогенизация влажных и сухих продуктов, получение частиц продукта заданного размера
- уменьшение размеров больших частиц до желаемого размера
- размалывание агломератов частиц до начального размера
- получение гомогенных гранулятов

Смешивание

Процесс при котором несколько отдельно находящихся порошкообразных компонентов после тщательного перемешивания образуют однородную смесь.

Эта процедура производится с целью достижения однородной массы и равномерности распределения действующего вещества в таблетках. Степень и скорость смешения зависит от следующих факторов :

- *физико-химических и технологических свойств отдельных компонентов* (распределение частиц по размерам, форма частиц, характеристика поверхности , насыпная плотность и плотность частиц, содержание влаги
- *характеристика смешивающих устройств* (размеры и геометрия смесителя, конструкционные материалы и степень их частоты)
- *условий операции смешивания* (отношение объемов смеси и смесителя, метод смешивания, последовательность, и скорость добавления компонентов, скорость смешивания) [21,22].

Гранулирование

Процесс гранулирования является важным , иногда неотъемлемым процессом в производстве твердых лекарственных форм. Гранулирование – направленное укрупнение частиц, процесс превращения порошкообразного материала в частицы определенной величины.

Цели грануляции заключаются в следующем:

- предотвращение расслоения многокомпонентных таблетлируемых масс;
- улучшение сыпучести порошков и смесей;
- обеспечение равномерной скорости поступления порошка в матрицу таблеточной машины;

- обеспечение большой точности дозирования;
- обеспечение равномерного распределения активного компонента и большей гарантии лекарственных веществ

Существуют два способа грануляции:

- сухая грануляция,
- влажная грануляция.

Сухая грануляция – это способ, при котором порошкообразный материал подвергается уплотнению с получением гранулята. Сухая грануляция применяется в тех случаях, когда влажная грануляция влияет на стабильность или физико-химические характеристики лекарственного вещества, а также когда лекарственные и вспомогательные вещества после проведения влажной грануляции плохо сжимаются [21].

Следует отметить, что при приготовлении таблеток сухая грануляция используется реже, чем влажная грануляция или прямое прессование.

Основные стадии сухой грануляции: [22]

- 1) Смешивание порошков
- 2) Компактирование
- 3) Измельчение
- 4) Просеивание
- 5) Опудривание
- 6) Смещение

При грануляции происходит сцепление частиц друг с другом под влиянием сил различной природы. На первом этапе происходит формирование связей между частицами, после чего начинают действовать капиллярные силы. На втором этапе происходит процесс агломерации за счет образования твердых мостиков в результате спекания частиц.

Влажная грануляция

Влажной грануляции подвергаются порошки, имеющие плохую сыпучесть и недостаточную способность к сцеплению между частицами.

В обоих случаях в массу добавляют связующие растворы, улучшающие сцепление между частицами. Грануляция, или протирание влажной массы, производится с целью уплотнения порошка и получения равномерных зерен-гранул, обладающей хорошей сыпучестью.

Влажная грануляция включает в себя последовательные стадии:

- измельчение веществ в тонкий порошок и смешивание сухого лекарственного вещества со вспомогательными веществами
- перемешивание порошков с гранулирующими жидкостями
- грануляция
- сушка влажных гранул
- опудривание сухих гранул

Влажная грануляция остается наиболее широко используемым методом изготовления смесей для производства таблеток. Имеется не менее четырех различных вариантов смеси :

1. Грануляция смеси лекарственного и вспомогательных веществ с использованием связующего раствора

2. Грануляция смеси лекарственного и вспомогательного веществ со связующим и чистым растворителем

3. Грануляция смеси лекарственного и вспомогательных веществ в части связующего с использованием раствора оставшейся части связующего.

4. Грануляция смеси веществ с использованием части раствора с последующим добавлением оставшейся части сухого связующего в готовый гранулированный материал.

Таблетирование - процесс образования таблеток из гранулированного или порошкообразного материала под действием давления.

Таблетки получают двумя способами :

- Прессованием таблеточных порошков или гранул на таблеточных машинах с различной производительностью

- Формованием таблеточной массы

Весь процесс таблетирования предложено разбить на 3 стадии :

- уплотнение

- образование компактного тела

- объемное сжатие образовавшегося компактного тела

На первой стадии процесса под воздействием внешней силы происходит сближение и уплотнение частиц материала за счет их смещения относительно друг друга и заполнения пустот. Прилагаемая энергия расходуется в основном на преодоление внутреннего и внешнего трения.

На второй стадии с увеличением давления происходит интенсивное уплотнение материала за счет заполнения пустот и различных типов деформации , которые способствуют более компактной упаковке материала. Возникающие деформации могут быть следующих типов :

- деформация за счет упругости помогает частицам взаимно вклиниваться, что увеличивает контактную поверхность;

- деформация за счет пластических свойств заставляет частицы изменить свою форму и плотнее прилегать друг другу;[23]

- деформация, определяемая хрупкостью материала , характеризующаяся разрушением прессуемого материала, происходит только в тех случаях, когда напряжение, возникающее в прессуемом материале, превышает по величине предел текучести материала. При этом имеет место механическое разрушение частиц материала на более мелкие , сопровождающееся значительным

увеличением поверхностной энергии, что создает условия для возникновения контактов между частицами.

Прямое прессование – процесс получения негранулированных порошков. К преимуществам прямого прессования относятся [21]

- сокращение времени производственного процесса за счет упразднения ряда операций и стадий;

- использование меньшего количества оборудования

- уменьшение производственных площадей

- снижение энерго - и трудозатрат

- получение таблеток из влаго - и термолабильных материалов и несовместимых веществ.

К недостаткам способа прямого прессования относятся :

- возможность расслаивания таблеточной массы

- изменение дозировки при прессовании со незначительным количеством действующих веществ

- необходимость использования высокого давления

Однако несмотря на целый ряд преимуществ , прямое прессование медленно внедряется в производство. Это объясняется тем, что для производительной работы таблеточных машин прессуемый материал должен обладать оптимальными технологическими характеристиками , а именно :

изодиаметрической формой кристаллов, хорошей сыпучестью, высокой прессуемостью и низкой адгезионной способностью к пресс-инструменту.

Таблетирование осуществляется пресс-инструментом, состоящим из матрицы и пуансонов (верхними и нижними).

Матрица представляет стальной диск, в котором просверлено цилиндрическое отверстие диаметром от 3 до 25 мм. Сечение отверстия равно диаметру таблетки.

Пуансоны цилиндрические стержни из хромированной стали, которые входят в отверстия матрицы сверху и снизу и обеспечивают прессование таблетки под действием давления.

Технологический принцип таблетирования состоит из ряда последовательных операций:

1. Заполнение матриц таблетлируемым материалом
2. Собственно прессование
3. Выталкивание
4. Сбрасывание таблеток

2 Собственные исследования

2.1 Мониторинг ситуации туберкулеза в Казахстане

В 1993 году Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила туберкулез проблемой глобального уровня , требующей незамедлительного вмешательства , и в 1994 году сформировала международную стратегию для борьбы с туберкулезом, охватывающую медицинские, социальные, технические, политические аспекты. После распада Советского союза данное решение имело большое значение для Казахстана, так как началась ухудшаться эпидемиологическая ситуация по Казахстану. Общеизвестный кризис в наших странах начала 90-х годов имел тяжелые последствия. Экономический спад,

ухудшение экологической обстановки, миграционные процессы, снижение жизненного уровня и резистентности населения [18].

По статистическим данным ВОЗ эпидемией заболевания туберкулезом считается 50 случаев на 100 тысяч населения. В Республике Казахстан количество зарегистрированных случаев туберкулеза в последние годы превышает эпидемиологический показатель в 2-3 раза. По уровню заболеваемости туберкулезом Республика Казахстан занимает лидирующее положение среди стран СНГ и Европы [18].

Так темпы роста заболевания за период с 1995 по 1998 год составляло с 12 % до 30 %.

Было регламентировано внедрение на всей территории Республики Казахстан методы лечения и диагностики по рекомендациям ВОЗ (стратегия DOTS).

Больные получили возможность гарантированного бесплатного лечения за счет государства по современным международным методам.

Одним из основных элементов этой программы, является выявление больных заразной формой туберкулеза.

Анализ основных эпидемиологических показателей по туберкулезу в республике показывает, что за период с 1995 по 2002 годы наблюдался значительный стабильный рост заболеваемости туберкулезом, с 70,1 случаев в 1995 году до 164,8 в 2002 году [19].

Для контроля заболеваемости туберкулезом в 1999 году Всемирным банком был предоставлен республике кредит на сумму 9,4 млн. долларов США. За период 1999–2000 годов на средства этого кредита было приобретено 125 бинокулярных микроскопов высокой разрешающей способности, 20 биологических шкафов безопасности, реактивы и проведено обучение специалистов из регионов как противотуберкулезной службы, так общелечебной сети и санитарно-эпидемиологической службы всех уровней.

Это позволило обеспечить выявление наличия заболевания у лиц, обратившихся с симптомами, подозрительными на туберкулез, и в целом привело к росту диагностического показателя заболеваемости туберкулезом.

Помимо этого Казахстан в отличие от других государств СНГ выделил бюджетные средства для закупки противотуберкулезных препаратов на тендерной основе. За счет Республиканского бюджета с 1998 года все противотуберкулезные учреждения обеспечены достаточным количеством и в полном объеме противотуберкулезными препаратами [18].

В Национальном центре проблем туберкулеза, внедрена компьютерная программа по слежению за больными туберкулезом.

Начиная с 2002 года, наблюдается постепенное снижение показателей заболеваемости туберкулезом, и отмечается в целом положительная тенденция к стабилизации эпидемиологической ситуации по туберкулезу.

Так, в 2006 году заболеваемость туберкулезом в республике составила 132,1 случая на 100.000 населения против 147,4 в 2005 году. В 2007 и 2008 году показатель заболеваемости туберкулезом сохранялся на уровне 126 зарегистрированных случаев, а в 2009 году этот показатель составил уже 105,5 случаев с впервые установленным диагнозом.

Следует отметить, что ежегодно в республике регистрируется до 23 тыс. новых больных туберкулезом с открытой формой заболевания. В наибольшей степени туберкулез диагностируется среди лиц трудоспособного возраста от 18 до 54 лет, причем более половины составляют больные моложе 34 лет.

Вместе с тем, отмечается четко выраженная тенденция к росту туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, как среди контингента противотуберкулезных диспансеров, так и среди впервые выявленных больных туберкулезом, что связано с расширенным охватом больных тестом на лекарственную чувствительность [18].

В настоящее время в Казахстане насчитывается более 8000 больных, страдающих мультирезистентной формой заболевания. По уровню распространенности туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью Казахстан занимает, по данным ВОЗ, лидирующее положение среди таких постсоветских стран как: Латвия, Литва, Эстония, часть Российской Федерации, Кыргызская Республика, Таджикистан и Узбекистан. Более благоприятная эпидемиологическая ситуация по туберкулезу наблюдается, например, в Республике Беларусь, в Украине и Армении [19].

Кроме того, наблюдается рост заболеваемости туберкулезом среди подростковой части населения. Из 100 тысяч подростков у 126 обнаруживается туберкулез в лекарственно устойчивой форме.

Если говорить об уровне заболеваемости туберкулезом в разрезе областей республики, то наиболее высокая заболеваемость туберкулезом отмечается в западных областях: Атырауской, Западно-Казахстанской, Мангистауской, Актюбинской., а также в Павлодарской области. Там заболеваемость в среднем на 10-30 % выше средних республиканских показателей. Самая низкая заболеваемость отмечена в Алматинской, Южно-Казахстанской областях и в г.Алматы [19].

Динамика смертности от туберкулеза

Одним из объективных и важных критериев, отражающих состояние эпидемиологической обстановки в республике, является показатель смертности от туберкулеза. За период с 2000 по 2004 годы показатель смертности снизился на 22 %, с 26,4 до 20,6 случаев соответственно.

В период с 2004 по 2006 годы показатель смертности от туберкулеза сохранялся на уровне 20,5 случаев на 100 тыс. населения. За последние три года динамика показателя смертности от туберкулеза показывает постепенную тенденцию к снижению, с 18,1 случаев в 2007 году до 12,5 в 2009 году. Тем не менее, рост показателя смертности от туберкулеза отмечается в Акмолинской, Костанайской, Жамбылской, Северо-Казахстанской, Восточно-Казахстанской областях и в городе Астане [20].

В структуре смертности от туберкулеза основную долю (более 52%) составляют хронические формы туберкулеза легких, впервые выявленные - около 8%, рецидивы - 14%, прибывшие из учреждений пенитенциарной системы - 12%, без определенного местожительства - 14%.

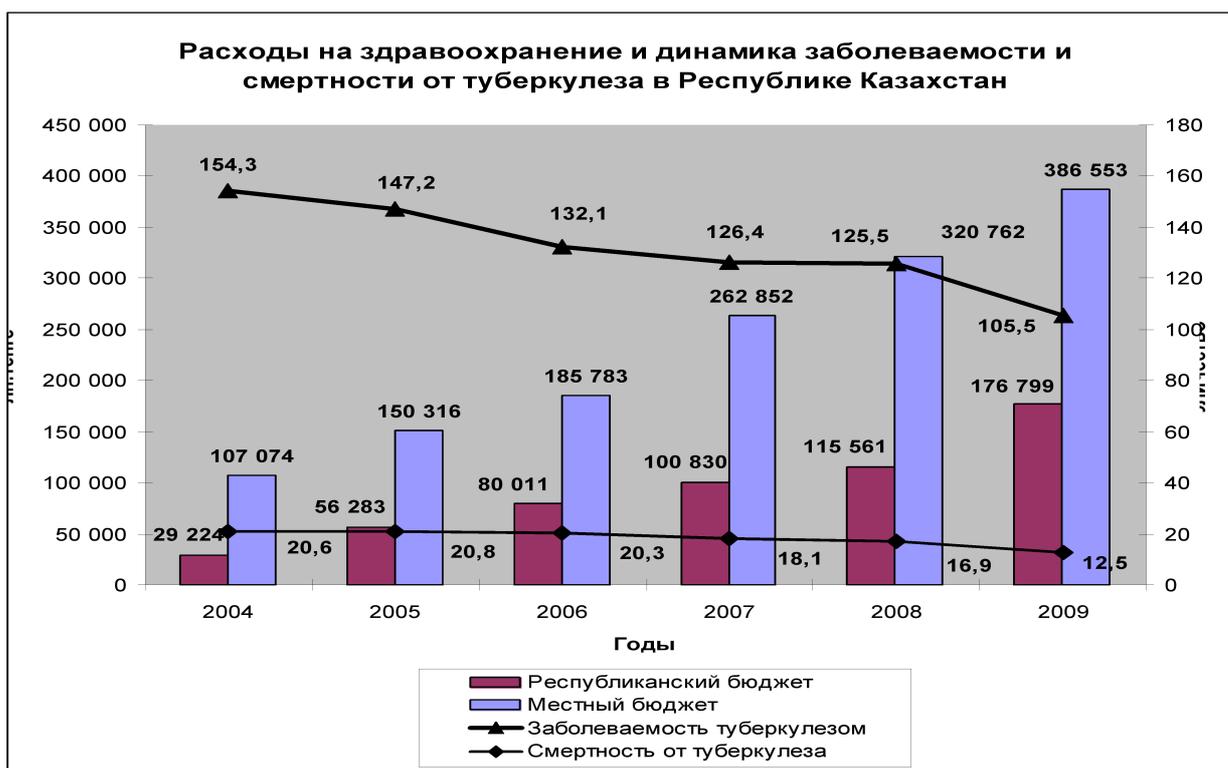
Государственные расходы на здравоохранение в Казахстане.

За период с 2004 по 2009 годы объем государственных расходов на здравоохранение вырос в 3,2 раза в абсолютном выражении. Если в 2004 году на здравоохранение было выделено 131 184 млн. тенге, то в 2009 году из республиканского бюджета было выделено 176 799 млн. тенге, из местных бюджетов - 386 553 млн. тенге. Это отражено на рис.1

В структуре общих расходов государства расходы на здравоохранение также увеличились с 8% в 2001 году до 12% в 2008 году.

Если говорить о расходах на здравоохранение в процентах от валового внутреннего продукта (ВВП), то за период с 2004 по 2009 годы этот показатель увеличился с 2,2% до 2,5% от ВВП соответственно.

Рисунок 3. Расходы на здравоохранение и динамика заболеваемости и смертности туберкулеза в Казахстане



Тем не менее, значение этого показателя остается достаточно низким по сравнению с показателями стран Европейского Союза, где средним значением является 7%. По рекомендациям Всемирной организации здравоохранения минимальным уровнем расходов на здравоохранение считается 4% от ВВП.

Следует отметить, что большую часть расходов населения на здравоохранение покрывает государство. Если в 2004 году доля участия государства составляла 74,8%, то в 2008 году эта доля составила более 87%.

Расходы государства на здравоохранение на душу населения увеличились с 5983 тенге в 2004 году до 22 320 в 2008 году, однако, уровень этих расходов меньше по сравнению со средними расходами на душу населения в России, Беларусь и странах Балтии.

Анализ финансирования здравоохранения республики показывает, что выделяемые средства расходуются в основном на строительство дополнительных учреждений туберкулезной службы, в том числе на строительство новых тубдиспансеров и больниц.

За период 2004-2006 годы было построено 23 объекта противотуберкулезной службы; в 2007 году - 8 объектов из средств республиканского и местного бюджетов [20].

Однако сравнительный анализ показывает, что между увеличением количества коек в туберкулезных больницах и снижением показателя

заболеваемости туберкулезом и рецидивов отсутствует прямая корреляционная зависимость.

Более того, несмотря на увеличение бюджетных ассигнований на туберкулезную систему в абсолютном исчислении, бюджет расходов на борьбу с туберкулезом в процентном соотношении от общих затрат на здравоохранение уменьшился почти в 3 раза по сравнению с 2002 годом.

Таким образом, проведенная в Казахстане большая работа сыграла положительную роль в стабилизации и улучшении эпидемиологической ситуации по туберкулезу в республике.

Вместе с тем проведение противотуберкулезных мероприятий осложняется имеющимися следующими проблемами:

1. Большой резервуар трудноизлечимых форм туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью.
2. Высокий процент нарушения режимов лечения в поддерживающей фазе.
3. Значительный резервуар туберкулезной инфекции из-за наличия хронических больных, нерешенность проблемы в их изоляции.
4. Резервуар бацилловыделителей требует в стране создания специализированных отделений для больных [20].

2.2 Материалы и методы исследований

В соответствии с поставленными задачами, экспериментальные исследования проводились в лаборатории ТОО «Павлодарский фармацевтический завод».

В качестве объекта наших исследований нами была выбрана субстанция рифампицин.

На первом этапе работы проводились исследования образования комплекса рифамипицина с β -циклодекстрином с целью выбора оптимального соотношения в комплексе рифампицина, а также условия профиля растворения рифампицина в данном комплексе в разных средах.

На втором этапе проводился выбор рецептуры состава и технологического процесса Рифампицина с изониазидом.

На третьем этапе было проведена отработка выбранной нами рецептуры препарата.

На заключительном этапе было произведено сравнение разработанного нами препарата с аналогом Рифампицина от другого производителя.

Для включения в рецептуру тестируемого препарата было использованы Кавамакс W7(β -циклодекстрин), Полипладон XL -10, изониазид (ФС РК -42,

1918-08), производства Shanghai International (Китай), рифампицин (ФС РК -42, 1918-08, производства Luohe Nanjecun(Китай), Taighou LTD (Китай) лактоза, кальций стеарат производства Beijing International (Китай).

Исследования проводились по общепринятым в Государственной фармакопее РК (1,2 том 2009 г.) методикам.

Методика определения истираемости таблеток.

Испытание позволяет определить истираемость таблеток без оболочки при определенных условиях, т.е. повреждения поверхности таблеток под воздействием механического удара или истирания.

Оборудование. Используют барабан с внутренним диаметром от 283 до 291 мм и глубиной от 36 до 40 мм, изготовленный из прозрачного синтетического

полимера. Одна сторона барабана съемная. При каждом обороте барабана таблетки приводятся в движение посредством изогнутой лопасти с внутренним диаметром от 75.5 до 85.5 мм, расположенной между центром барабана и его наружной стенкой. Барабан крепится к горизонтальной стенке, обеспечивающим скорость вращения 25 оборотов/мин. Таким образом, при каждом обороте барабана таблетки падают, переворачиваясь или скользя, на стенку барабана или друг на друга.

Методика. При массе одной таблетки менее 0.65 г для испытания берут 20 таблеток; при массе одной таблетки более 0.65 г - 10 таблеток. Таблетки помещают на сито номер 1000, и тщательно удаляют пыль посредством сжатого воздуха или мягкой кисточки.

Таблетки взвешивают (точная навеска) и помещают в барабан. После 100 оборотов барабана таблетки извлекают, и снова тщательно удаляют пыль. Если ни на одной из таблеток нет сколов или трещин, таблетки взвешивают с точностью до миллиграмма. Обычно испытание проводят один раз. Если полученные результаты вызывают сомнение или потеря в массе превышает 1 %, испытание повторяют ещё дважды, и вычисляют среднее из трёх измерений. При отсутствии других указаний в частной статье, потеря в массе должна быть не более 1 % от суммарной массы испытуемых таблеток.

Представление результатов. Истираемость выражают потерей в массе, вычисленной в процентах от исходной массы испытуемых таблеток.

Тест проводится для оценки способности таблеток выдерживать трение в упаковке и пригодности их к транспортированию.

Методика определения распадаемости таблеток

Испытание на распадаемость позволяет определить, распадаются ли таблетки или капсулы в пределах установленного времени, когда они помещены в жидкую среду в экспериментальных условиях, указанных ниже.

Образцы считают распавшимися, когда на сетке:

- а) нет остатка;
- в) есть остаток, состоящий из мягкой массы, не имеющей ощутимо твердого несмачиваемого ядра;
- с) есть только фрагменты покрытия (таблетки), или только фрагменты оболочки на сетке, или, если были использованы диски, фрагменты оболочки, прилипшие к нижней поверхности диска (капсулы).

Оборудование. Главная часть оборудования состоит из жесткой корзинки с сетчатым дном-подставкой (корзинка), поддерживающей шесть цилиндрических прозрачных трубок длиной (77.5 ± 2.5) мм с внутренним диаметром 21.5 мм и толщиной стенки около 2 мм. Каждая трубка снабжена цилиндрическим диском диаметром $(20.7 + 0.15)$ мм и толщиной (9.5 ± 0.15) мм, изготовленным из прозрачной пластмассы с относительной плотностью от 1.18 до 1.20 или массой 3.0 ± 0.2 г.

Корзинку подвешивают в жидкость, указанную в соответствующих общих и частных статьях, в подходящем сосуде, предпочтительно в стакане вместимостью 1 л. Объем жидкости должен быть таким, что, когда корзинка находится в крайнем верхнем положении, сетка должна быть, как минимум, на 15 мм ниже поверхности жидкости; когда же корзинка находится в самом нижнем положении, сетка должна быть на 25 мм выше дна сосуда, а верхние открытые концы стеклянных трубок - над поверхностью жидкости. Температуру жидкости от 35 °С до 39 °С поддерживают при помощи подходящего устройства.

Методика. В каждую из шести трубок помещают одну таблетку или капсулу и, если указано, помещают диск; подвешивают корзинку в сосуд с жидкостью.

Включают прибор, по истечении указанного времени корзинку вынимают, и исследуют состояние таблеток или капсул. Препарат выдерживает испытание, если все таблетки или капсулы распались.

Методика теста растворение

Данный тест используют для определения скорости растворения активных ингредиентов твердых дозированных форм (например, таблетки, капсулы и суппозитории).

Для проведения теста можно использовать прибор с лопастью-мешалкой, корзинкой или, в специальных случаях, с проточной кюветой, при отсутствии других указаний в частной статье. В каждом конкретном случае применения теста «Растворение» должно быть указано следующее:

- используемый прибор;

в тех случаях, когда применяется прибор с проточной кюветой, должен быть указан также тип проточной кюветы.

- состав, объем и температура среды растворения;

- скорость вращения или скорость протекания среды растворения;
- время, метод и объем отбираемого испытуемого раствора или условия для непрерывного контроля;
- метод анализа;

Методика

Приборы с лопастью и корзинкой

Помещают указанный объем среды растворения в сосуд, собирают прибор, нагревают среду растворения до $(37.0 \pm 0.5) ^\circ \text{C}$ и удаляют термометр.

Помещают одну единицу испытуемого препарата в прибор. Для прибора с лопастью: перед началом вращения лопасти помещают препарат на дно сосуда; твердые дозированные формы, которые при этом могут всплывать, помещают на дно *сосуда* горизонтально с помощью подходящего устройства, например, проволоки или стеклянной спирали.

Для прибора с корзинкой: препарат помещают в сухую корзинку, которую опускают в соответствующее положение перед началом вращения.

В качестве среды растворения можно использовать *воду Р, 0.1 М кислоту хлороводородную*, фосфатные буферные растворы с рН от 6,8 до 7,6 и другие водные растворители. Неводные растворители в средах растворения используют в исключительных случаях, и их применение требует дополнительного обоснования.

Объем среды растворения должен быть не менее 500 мл.

Проводят параллельно испытание для шести единиц испытуемого препарата.

При отсутствии других указаний в частной статье, для каждой единицы испытуемого препарата за 45 мин в раствор должно перейти не менее 75 % и не более 115 % действующего вещества.

Рисунок 4. Тестер для определения растворения Erweka (Германия)



Методика определения таблеток на излом

Испытание позволяет установить возможность устойчивости таблеток к раздавливанию при определенных условиях, путем измерения силы воздействия на таблетку.

Оборудование Прибор представляет собой два расположенных друг напротив друга зажима , один из которых может перемещаться по направлению к другому. Плоскости поверхностей зажимов перпендикулярны направлению движения. Сдавливающие поверхности зажимов должны быть плоскими и превосходить по размеру зону контакта с таблеткой.

Методика Таблетку помещают между зажимами , принимая во внимание ее форму. Для всех измерений таблетка должна быть ориентирована по отношению к направлению прилагаемой силы. Измерения проводят для 10 таблеток. Минимальная допустимая устойчивость таблеток к раздавливанию не менее 3,5 кН.

Рисунок 5. Тестер для определения устойчивости таблеток на излом Erweka (Германия).

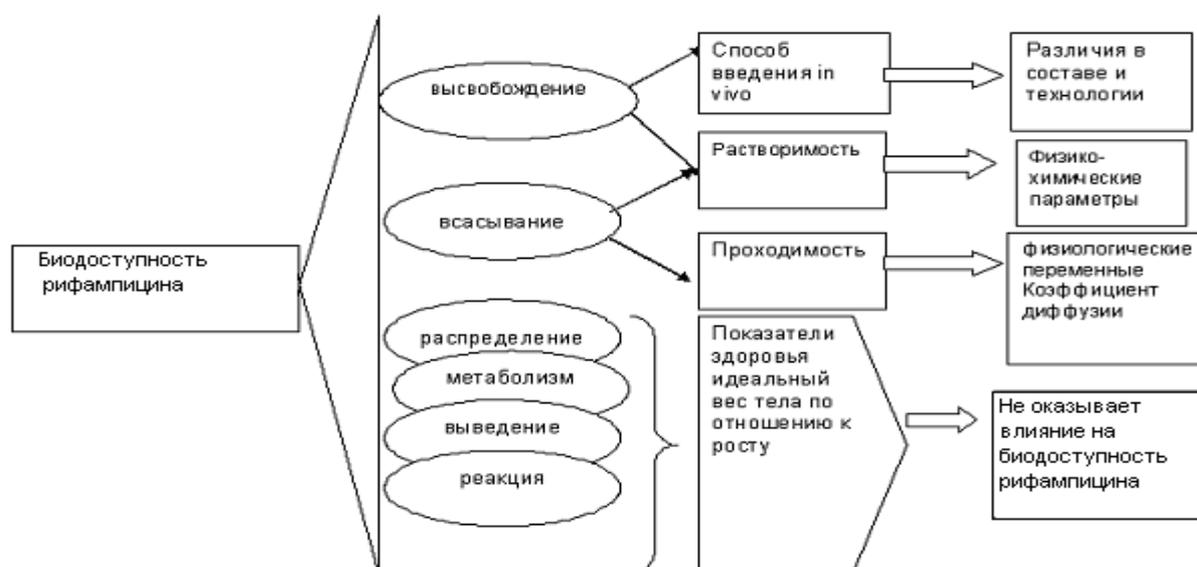


В соответствии с Биофармацевтической классификационной системой (BCS) биодоступность рифампицина лимитируется его растворимостью.

Рифампицин является обязательным компонентом лекарственных комбинированных включений для лечения туберкулёза.

Рифампицин - полусинтетический антибиотик, применяемый в качестве препарата первого ряда. Курс лечения предусматривает назначение больших доз препарата (600-750 мг) в течение длительного времени (9-12 мес.). Несмотря на более чем полувековой период применения рифампицина в химиотерапии туберкулеза фармацевтическая разработка его твердых дозированных форм (капсул) включает достаточно вопросов, требующих глубокого исследования.

Рисунок 6. Факторы, влияющие на биодоступность рифампицина



Согласно системе Биофармацевтической классификации активные фармацевтические ингредиенты разделяют на 4 класса по степени их растворимости и проницаемости через биомембраны (всасываемость).

Таблица 2- Биофармацевтическая классификационная система (BCS)

Класс BCS	Растворимость	Проницаемость (всасываемость)
1	Высокая	Высокая
2	Низкая	Высокая
3	Высокая	Низкая
4	Низкая	Низкая

Согласно рекомендациям ВОЗ, активный фармацевтический ингредиент обладает высокой растворимостью, если его предельная доза растворяется в объеме не более 250 мл воды при 37°C и pH от 1,2 до 6,8. Высокая всасываемость активного вещества наблюдается, если объем его абсорбции у человека составляет не менее 85 % на основании определения баланса масс или по сравнению с вводимой внутривенно дозой.

В настоящее время Биофармацевтическая система классификаций принята Американской организацией FDA в качестве одного из оснований для замены исследований биодоступности вещества в опытах *in vivo* на тест «Растворение», проводимый *in vitro*. В соответствии с классификацией BCS

вещества с высокой проницаемостью (классы 1 и 2) проявляют высокую корреляцию результатов *in vitro/in vivo*, тогда как вещества, обладающие низкой проницаемостью (классы 3 и 4), отличаются низкой степенью корреляции. Для веществ 2 класса процесс растворения является лимитирующей стадией. FDA определен перечень лекарственных средств с различной степенью проницаемости через биомембраны в качестве внутренних стандартов и маркеров для сравнительного исследования потенциальных лекарственных средств. Классификация BCS позволяет определить необходимость исследований биодоступности и биоэквивалентности *in vivo*.

В соответствии с данной классификацией противотуберкулезные средства основного ряда относятся к следующим классам:

- класс 1 – изониазид (первичный амин), пиразинамид;
- класс 2 - рифампицин (третичный амин);
- класс 3 – этамбутол (первичный амин).

Всасывание рифампицина, как представителя 2 класса, непосредственно зависит от скорости его растворения.

Тест «Растворение» для твердых дозированных форм рифампицина не может в полной мере заменить исследования биодоступности *in vivo*. Однако применение его с целью предварительной оценки эффективности разрабатываемых комбинированных препаратов вполне допустимо

Тест «Растворение» подробно описан в Государственной фармакопее Республики Казахстан, и подробно описана процедура описания на рифампицин. В соответствии с рекомендациями ВОЗ, изучение профиля растворения рифампицина целесообразно проводить из 20 единиц твердой дозированной формы в каждой из трех нижеприведенных сред в условиях:

- среды растворения - 0,1 М кислота хлороводородная, буферные растворы с рН 6,8 и 7,4;
- объем среды растворения 900 мл или менее;
- температура 37 °С;
- частота отбора образцов 5,10, 15, 20, 30, 45 мин.

В начальной схеме наших исследований нами была поставлена задача провести комплексообразование рифампицина и β-циклодекстрина в соотношениях (1:1,2:1,1:0,5) посмотреть процент высвобождения рифампицина для каждого и соотношений комплекса в трех испытуемых средах для растворения и установить наилучшее соотношение комплекса по профилю растворения для определения рецептуры лекарственного препарата рифампицина.

Перед работой по образованию комплекса нами была проведена работа по определению растворимости субстанции рифампицина Luohe Nanjesun(Китай),

согласно методике теста растворения в трех испытываемых средах при pH 1,2, 6,8, 7,4.

Таблица 3 - Результаты растворения субстанции Рифампицина

Время (мин)	Среда 0,1 м HCL (pH 1,2)	Фосфатный буфер (pH 6,8)	Фосфатный буфер (pH 7,4)
5	62	10	10
10	81	14	13
20	92	17	15
30	94	18	16
45	96	19	18

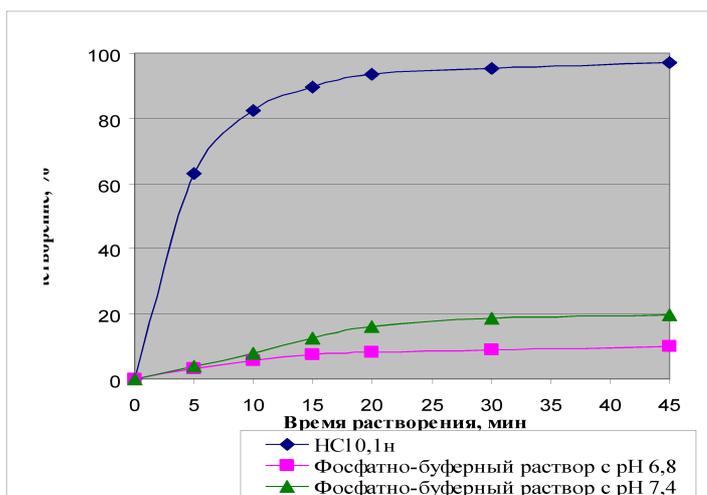


Рисунок 7. Профиль растворения субстанции рифампицин

Как мы видим из приведенных исследований растворение рифампицина хорошо проходит при среде с pH 1,2 и незначительное растворение при щелочных средах.

Следующий этап мы измерили насыпную плотность рифампицина на тестере для определения плотности Erweka.

Насыпная плотность – масса единицы объема свободного насыпанного порошка. Насыпная плотность является комплексной характеристикой, зависящей от формы, распределения частиц по размерам, плотности, характеристики.

Показатели насыпной плотности важны для характеристики субстанции, чтобы определить, как она будет прессоваться при таблетировании, показатель после усадки должен составлять больше чем до усадки.

Насыпная плотность до усадки	Насыпная плотность после усадки
0,680 г/см	0,750 г/см

Сыпучесть мы измерили на тестере для сыпучесть, чтобы определить текучесть порошка. Сыпучесть – способность порошка высыпаться из ёмкости воронки или течь под силой собственной тяжести и обеспечивать равномерное заполнение матричного канала. Материал, имеющий плохую сыпучесть, может прилипать в матрицу, что нарушает ритм поступления и приводит к колебаниям плотности таблеток.

При $d = 25$ мм сыпучесть составила 8,6 г/с.

Рисунок 8. Тестер для определения сыпучести Erweka (Германия)



На первом этапе наших исследований нами была поставлена задача провести комплексообразование рифампицина и β -циклодекстрина. Мы использовали рифампицин производства Luohe Nanjiesun (Китай) и β -циклодекстрин марки Sawatax (США).

Из существующих методик приготовления комплекссообразования с β -циклодекстринами, нами была выбрана методики сухого смешения, посредством активного втирания активной субстанции в циклодекстрин. Данная методика была выбрана нами в связи с физическими свойствами субстанции рифампицин, которая характеризуется гигроскопичностью и быстрым окислением, поэтому методика увлажнения нам не подходила.

Нами были выбраны 3 композиции комплексов для определения наилучшего высвобождения рифампицина в 3 исследуемых средах. Мы брали соотношение рифампицин - β -циклодекстрин в соотношении (1:1, 2:1, 1:0,5). Методика сухого смешения подразумевала тщательное втирание рифампицина в β -циклодекстрин в течении 45-60 мин.

Расчет комплекса производился от значения молекулярных масс ингредиентов. Молекулярная масса рифампицина составляет 823 г/моль.

Молекулярная масса β -циклодекстрина составляет 1135 г/моль.

Для образования комплекса мы взяли 10 г рифампицина.

Количество мы взяли из расчета по формуле:

$$\frac{\text{Количество взятого рифампицина} \times \text{Молекулярная масса } \beta\text{-циклодекстрина}}{\text{Молекулярная масса рифампицина}}$$

Расчет комплекса (1:1):

$$10 \times 1135 \div 823 = 13,79 \text{ г } \beta\text{-циклодекстрина}$$

Расчет комплекса (1:2)

На 10 г рифампицина мы берем 27,58 г β -циклодекстрина

Расчет комплекса (1:0,5) :

На 10 г рифампицина мы берем 6,89 г β -циклодекстрина.

Результаты профилей растворения 3 комплексов приведены в таблицах и на графиках.

Комплекс рифампицин- β -циклодекстрин (1:1).

Результаты представлены в таблице 3 и рисунках 7 и 8

Таблица 3 - Профиль растворения комплекса Рифампицин-Циклодекстрин (1:1)

Время, мин	Среда с 0,1 М HCl (pH 1,2), растворение (%)	Фосфатный буфер(pH 6,8) растворение (%)	Фосфатный буфер (7,4) растворение (%)
5	36,5	46,5	42,3

10	58,5	50,5	44,4
15	65,2	58	50,8
20	69,7	76,5	52,2
30	74,2	81,3	78,3
45	81,7	93,9	84

Рисунок 8 Растворение комплекса рифампицин-бетациклодекстрин в 0,1 М HCL

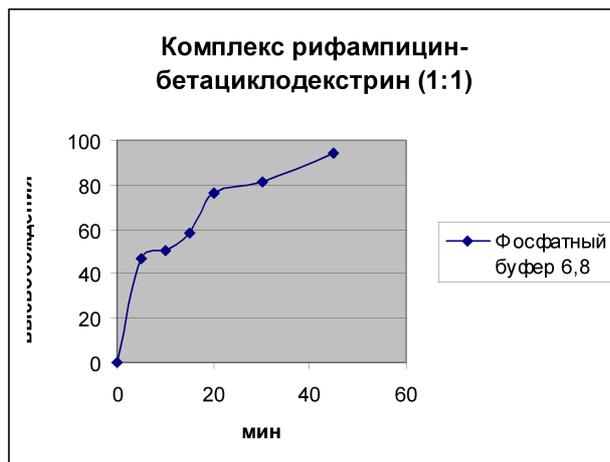
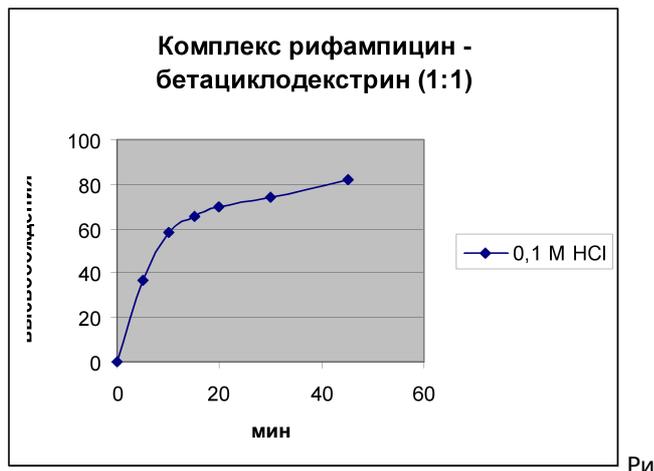


Рисунок 9 Растворение комплекса рифампицин-бетациклодекстрин в фосфатном буфере 6,8

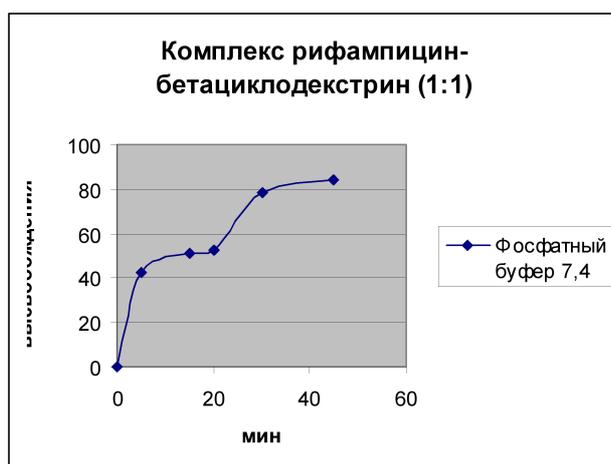


Рисунок 10. Комплекс рифампицин- β-циклодекстрин (1:1). Фосфатный

Таблица 5 - Профиль растворения

Время, мин	Среда с 0,1 М HCl (pH 1,2), растворение (%)	Фосфатный буфер(pH 6,8) растворение (%)	Фосфатный буфер (7,4) растворение (%)
5	33,5	45	41,7
10	50,5	48	44,4
15	58	55	48
20	64,5	74	50
30	70,2	80,5	77
45	80	91,4	82

Комплекс рифампицин- β-циклодекстрин (1:0,5).

Таблица 6 - Профиль растворения

Время, мин	Среда с 0,1 М HCl (pH 1,2), растворение (%)	Фосфатный буфер(pH 6,8) растворение (%)	Фосфатный буфер (7,4) растворение (%)
5	40	30	28
10	55	44	44
15	60	50	45
20	67	65	55
30	74,5	74	71
45	84	83	77

Из приведенных исследований комплекса мы можем сделать выводы, что наилучший результат высвобождения рифампицина в трех исследуемых средах был продемонстрировано, что наиболее лучше рифампицин высвобождается при соотношении в комплексе с циклодекстрином 1:1.

Данная комбинация рифампицин-циклодекстрин 1:1 будет нами использоваться для состава рецептуры лекарственного препарата.

На 2 этапе наших исследований нами была выполнена разработка рецептуры лекарственного препарата на основе включения комплекса рифампицина с циклодекстрином.

Цель любой разработки фармацевтического препарата это выполнение 3 обязательных условий: качество, эффективность, безопасность.

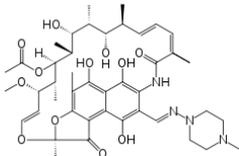
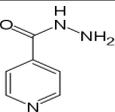
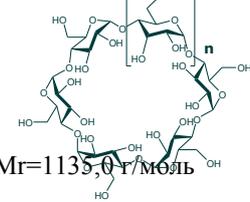
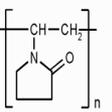
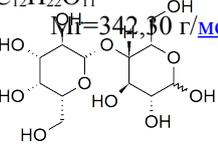
Нами было рассмотрено несколько вариантов состава.

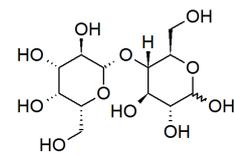
Таблица 6 - Состав 1. Производственная рецептура

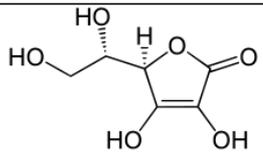
Компоненты	НД(Нормативная документация)	Содержание в единице лек-ой формы, %	Состав на единицу лек-ой формы, мг	Состав на серию (300 г), г	Пересчет с учетом влажности и кол-го содержания АФИ, г	Примечание
Рифампицин	ГФРК I т.2, ЕФ*	23,530	60,000	69,231	70,857	к/с=98%, W=0,3%
Изониазид	ГФРК I т.2; ЕФ*	11,760	30,000	34,615	35,142	к/с=98,5%
Бетациклодекстрин	ЕФ*	16,270	41,500	47,885	56,270	W=14,9%
Кросповидон (полипласдон XL-10)	ЕФ*	13,330	34,000	39,231	39,231	-
Лактозы моногидрат	ЕФ*; БФ*	21,370	53,400	61,615	61,615	-
Маннитол	ЕФ*	7,840	20,000	23,077	23,077	-
Эудрагит	ЕФ*	2,308	6,000	6,923	6,923	-
Этанол	ЕФ*	16,154	42,000	48,462	48,462	-
Бифендат	АНД РК 42-3016-11	2,750	7,000	8,077	8,077	-
Аскорбиновая кислота	ГФРК I т.2	1,180	3,000	3,462	3,462	-
Кальций стеарат	ГФРК I т.2, ЕФ*	1,000	2,600	3,000	3,000	-
Кремния диоксид коллоидный безводный	ГФРК I т.2; ЕФ*	1,000	2,600	3,000	3,000	-
<i>Масса таблетки, мг</i>			260,000			

*Компоненты и их технологические характеристики
Компоненты лекарственного препарата*

№ п/п	Наименование компонента и их описание	Структурная химическая формула, молекулярная масса
1	2	3
1	Рифампицин – действующее вещество: 3-[[[4-метил-1-	

	<p>пиперазинил)имино]метил]рифамицин <u>противотуберкулёзное средство</u>. Активен в отношении микобактерий туберкулёза и лепры, действует на грамположительные (особенно стафилококки) и грамотрицательные (менингококки, гонококки) кокки, менее активен в отношении грамотрицательных бактерий. Механизм действия связан с подавлением ДНК-зависимой РНК-полимеразы микроорганизмов.</p>	 <p>$C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ $M_r=822,94$ г/моль</p>
2	<p>Изониазид (тубазид) – <u>лекарственное средство, противотуберкулёзный препарат (ПТП)</u>, гидразид изоникотиновой кислоты (ГИНК). Показан для лечения <u>туберкулёза</u> всех форм локализации.</p>	 <p>$C_6H_7N_3O$ $M_r=137,4$ г/моль</p>
3	<p>Бетадекс – белый кристаллический порошок. При нагревании выше $50-60^\circ C$ комплексы обычно распадаются полностью и обычно восстанавливают свою структуру при охлаждении. В процессе образования комплексов меняются многие исходные свойства соединений. Нерастворимые в воде вещества, приобретают большую растворимость, становятся стабильными в процессах окисления и гидролиза.</p>	 <p>$M_r=1135,0$ г/моль</p>
4	<p>Кросповидон (полипласдон XL-10) – разрыхляющее вещество, используется для улучшения распадаемости или растворения, обеспечивает механическое разрушение таблеток в жидкой среде, что необходимо для скорейшего высвобождения действующего вещества.</p>	 <p>$(-C_6H_9NO)$</p>
5	<p>Лактоза – <u>углевод группы дисахаридов</u>, содержится в <u>молоке</u> и молочных продуктах. Молекула лактозы состоит из остатков молекул <u>глюкозы</u> и <u>галактозы</u>. Высокой стабильность, низкая гигроскопичность, относительно малая цена и разнообразные функциональные свойства этого вспомогательного вещества (носитель, наполнитель и связующее).</p>	<p>$C_{12}H_{22}O_{11}$ $M_r=342,30$ г/моль</p> 
6	<p>Маннитол – осмотический <u>диуретик</u>. Лиофилизированная масса светло-желтого цвета. Растворим в воде (очень легко в горячей). Противоотечное, диуретическое средство. Повышает осмотическое давление плазмы, способствует переходу жидкости из тканей в сосудистое русло, увеличивает ОЦК. Фильтруется почками без последующей канальцевой реабсорбции, повышает осмотическое давление в канальцах и препятствует реабсорбции воды.</p>	<p>$C_6H_{14}O_6$ $M_r=182,17$ г/моль</p>
7	<p>Бифендат – белый кристаллический порошок, без вкуса и запаха. Хорошо растворим в хлороформе, практически не растворим в спирте и воде.</p>	<p>$C_{20}H_{18}O_{10}$ $M_r=418,4$ г/моль</p>
11	<p>Эудрагид (Eudragit® RS 100) – гранулы, pH независимо. Сополимеры акрилата и метакрилата с четвертичными группами аммония в сочетании с натрий-карбоксиметилцеллюлозой. Обеспечивают замедленное высвобождение действующего вещества в организме человека, тем самым, продлевая его терапевтический эффект.</p>	<p>$C_{21}H_{37}NO_6$ $M_r=399,52158$ г/моль</p>



1		3
8	<p>Аскорбиновая кислота – <u>органическое соединение</u>, родственное <u>глюкозе</u>, является одним из основных веществ в человеческом рационе, которое необходимо для нормального функционирования соединительной и костной ткани. Выполняет биологические функции восстановителя и <u>кофермента</u> некоторых <u>метаболических процессов</u>, является <u>антиоксидантом</u>. Биологически активен только один из изомеров — <i>L</i>-аскорбиновая кислота, который называют витамином С. В природе аскорбиновая кислота содержится во многих <u>фруктах</u> и <u>овошах</u>.</p>	 <p>$C_6H_8O_6$</p>
9	<p>Кальций стеарат – это смесь кальциевых солей и смеси стеариновой и синтетических жирных кислот. Представляет собой однородный порошок от белого до желтовато-белого цвета. Используется как пластификатор при переработке пластических масс, а так же как термостабилизатор поливинилхлорида.</p>	<p>$C_{36}H_{70}O_4Ca$ $M_r=607,03$ г/моль</p>
10	<p>Кремния диоксид коллоидный безводный – скользящее вещество (адсорбируясь на поверхности частиц, устраняют или уменьшают их шероховатость, повышая сыпучесть), обеспечивающее оптимальную сыпучесть порошков, необходимую для современного скоростного таблетирования.</p>	<p>SiO_2 $O=Si=O$ $M_r=60,8$ г/моль</p>

Технологические характеристики

№ п/п	Наименование компонента	Технологические характеристики					
		плотность, г/см ³			сыпучесть, г/с		
		насыпная		объемная плотность	C ₁₀	C ₁₅	C ₂₅
до усадки	после усадки						
1	Рифампицин	0,5129	0,6255	0,510	-	4,65-7,3	18,52-21,74
2	Изониазид	0,4953	0,6518	0,540	-	-	-
3	Бетадекс	0,592	0,801	0,720	-	-	5-13,2
4	Кросповидон (полипласдон XL-10)	0,251	0,261	0,357	-	-	-
5	Лактоза	0,7116	0,8109	0,740	7,2	22,7	250
6	Бифендат	0,7239	0,8130	0,740	8,47-2,0	27,8	100
7	Аскорбиновая кислота	0,969	0,717	0,740	-	-	40-71,4
8	Кальций стеарат	0,2125	0,2872	0,260	-	-	90,9
9	Кремния диоксид коллоидный безводный	0,0605	1,0514	0,060	-	-	2,38

Изложение технологического процесса

Подготовка сырья

Отбрали среднюю пробу всех субстанций, входящих в состав гранулята в количестве 10-15 г для определения показателей, указанных в таблице, и сдали в испытательную лабораторию завода.

Просеяли в контейнеры:

а) изониазид через сито PS 20;

- б) бетадекс через сито PS 30;
- в) кросповидон (полипласдон XL-10) через сито PS 30;
- г) лактозу через сито PS 20;
- д) маннитол через сито PS 30;
- е) бифендат через сито PS 30;
- ж) аскорбиновую кислоту через сито PS 20.

Приготовление 1-го гранулята.

1. Отвесили рифампицин, пересчитанном на влагу и на количественное содержание АФИ 70,857 г.
2. Отвесили β -циклодекстрин, в количестве пересчитанном на влагу 56,270 г.
3. Втирала Рифампицин – β -циклодекстрин в течение одного часа.
4. Добавили в комплекс аскорбиновую кислоту 3,462 г, перемешали в течение 10 минут

Приготовление 2-го гранулята

1. Приготовление увлажняющего раствора
2. Отвесили этиловый спирт в количестве 48,461 г
3. Отвесили эудрагид в количестве 6,923 г.
4. Влили этиловый спирт в эудрагид, поставить емкость с раствором на магнитную мешалку и вести перемешивание в течении 80 минут (до получения прозрачного раствора).

Приготовление сухого замеса

1. Смешали отвешенное количество изониазида, маннитола, лактозы, бифендата в течении 20 мин.
2. Вливали увлажняющий раствор в полученный замес, при постоянном перемешивании в течение 10 минут
3. Сдали в лабораторию для определения исходной влаги замеса. Исходная влага составила 12,2 %.
4. Сушили приготовленный замес при 45° С 25 минут в сушильном шкафу
5. Сдали в лабораторию для определения конечной влаги замеса. Конечная влага замеса составила 1,5 %.

Отпудривание таблеточной массы

1. Смешали 1-ый и 2-ой грануляты в течении 15 минут.
2. Отвесили полипласдон 39,231 г.

3. Добавили, отвешенное количество полипласдона в замес.
4. Перемешали в течение 10 минут
5. Рассчитали количество опудривающих веществ: 1 % от веса сухого замеса Са стеарат (2,66 г) и 1 % от веса сухого замеса аэросила (2,66 г).
6. Опудривали в течение 20 минут.

Таблетирование

1. Таблетировали, подбирая режим прессования.
 2. Сдали в лабораторию 40 таблеток для проверки соответствия физических параметров и определения количественного содержания АФИ в таблетках.
- Таблетирование вели на лабораторном таблетпрессе Zp-8 (Китай).(рис.11)

Рисунок 11.



Протокол анализа испытательной лаборатории.

Наименование показателей	Требование НД	Результаты анализа
Описание	Таблетки двояковыпуклой формы красного цвета	Таблетки двояковыпуклой формы красного цвета
Диаметр таблетки, мм	9	9
Средняя масса, мг	247,000-260,000-273,000	264,200
Истираемость, %	не более 1	0,3
Распадаемость, мин	не более 3 мин	1
Твердость, Н	более 3,5	4,4-4,0-8,1-8,8
Растворение рифампицина (РН=6,8) %	не менее 75 % за 45 мин	70
Растворение рифампицина (0,1 М HCl)	не менее 75 % за 45 мин	78
Количественное содержание рифампицина, мг/таб	55,5-60-64,5	59,000
Количественное содержание изониазида, мг/таб	27,75-30-32,25	28,200

Выводы: показание растворимости рифампицина не удовлетворяет требованиям нормативной документации.

Состав 2

Производственная рецептура

Компоненты	НД (Нормативная документация)	Содержание в единице лекарственной формы, %	Состав на единицу лекарственной формы, мг	Состав на серию (300 г), г	Пересчет с учетом влажности и кол-го содержания АФИ, г	Примечание
Рифампицин	ГФРК I т.2, ЕФ*	23,530	60,000	69,231	70,857	к/с=98%, W=0,3%
Изониазид	ГФРК I т.2; ЕФ*	11,760	30,000	34,615	35,142	к/с=98,5%
Бетациклодекстрин	ЕФ*	16,270	41,500	47,885	56,270	W=14,9%
Кросповидон (полипласдон XL-10)	ЕФ*	13,330	34,000	39,231	39,231	-
Лактозы моногидрат	ЕФ*; БФ*	21,370	53,400	61,615	61,615	-
Маннитол	ЕФ*	7,840	20,000	23,077	23,077	-
Повидон	ЕФ*	2,308	1,119	1,291	1,291	-
Вода очищенная	ЕФ*	16,154	10,626	12,260	12,260	-
Бифендат	АНД РК 42-3016-11	2,750	7,000	8,077	8,077	-
Аскорбиновая кислота	ГФРК I т.2	1,180	3,000	3,462	3,462	-
Кальций стеарат	ГФРК I т.2, ЕФ*	1,000	2,600	3,000	3,000	-
Кремния диоксид коллоидный безводный	ГФРК I т.2; ЕФ*	1,000	2,600	3,000	3,000	-
<i>Масса таблетки, мг</i>			260,000			

Изложение технологического процесса

Подготовка сырья

1. Отобрали среднюю пробу всех субстанций, входящих в состав гранулята в количестве 10-15 г для определения показателей, указанных в таблице, и сдали в испытательную лабораторию завода.
2. Просеяли в контейнеры: изониазид через сито PS 20; бетадекс через сито PS 30; полипласдон через сито PS 30; лактозы моногидрат через сито PS 20; маннитол через сито PS 30; бифендат через сито PS 30; аскорбиновую кислоту через сито PS 20.
1. Отвесили рифампицин, пересчитанном на влагу и на количественное содержание АФИ 71,000 г.
2. Отвесили β -циклодекстрин, в количестве пересчитанном на влагу 56,269 г.
3. Втирали Рифампицин- β -циклодекстрин в течение одного часа.
4. Добавили в комплекс аскорбиновую кислоту. Перемешали в течение 10 минут.

Приготовление 2-го гранулята

Приготовление увлажняющего раствора

1. Отвесили воду очищенную в количестве 12,26 г;
2. Отвесили повидон в количестве 1,119 г.
3. Всыпали повидон в воду очищенную, перемешивали до получения прозрачного раствора.

Приготовление сухого замеса

1. Отвешали в контейнер: изониазид в количестве, пересчитанном на влагу и количественное содержание АФИ 35,142 г; маннитол 23,077 г; лактоза 64,132 г; бифендат 8,077 г.
2. Смешали изониазид, маннитол, лактозу, бифендат в течении 20 мин.
3. Влили увлажняющий раствор в полученный замес, при постоянном перемешивании в течение 10 минут
4. Высушили приготовленный замес при 45° С 15 минут в сушильном шкафу.
5. Сдали в лабораторию для определения конечной влаги замеса. Конечная влага замеса составила 1 %. (Удовлетворяет необходимым требованиям)

Опудривание таблеточной массы

1. Смешали 1-ый и 2-ой грануляты в течении 15 минут.
2. Отвесили полипласдон 39,231 г. Добавили, отвешенное количество полипласдона в замес.
3. Перемешать в течение 10 минут.
4. Отвесили аспартам в количестве 2,600 г. Добавили аспартам в полученный замес и вели перемешивание в течение 10 минут.
5. Взвесили полученный замес.

Масса замеса составила 292 г. Рассчитали количество опудривающих веществ: 1 % от веса сухого замеса Са стеарата (2,92 г) и 1 % от веса сухого замеса аэросил (2,92 г). Опудривали в течение 20 минут.

Таблетирование

1. Таблетировали, подбирая режим прессования.
 2. Сдали в лабораторию 40 таблеток для проверки соответствия физических параметров и определения количественного содержания АФИ в таблетках.
- Таблетирование вели на лабораторном таблетпрессе Zp-8 (Китай).

Протокол испытательной лаборатории

Наименование показателей	Требование НД	Результаты анализа
Описание	Таблетки двояковыпуклой формы красного цвета	Таблетки двояковыпуклой формы красного цвета
Диаметр таблетки, мм	9	9
Средняя масса, мг	247,000-260,000-273,000	261,200
Истираемость, %	не более 1	0,3
Распадаемость, мин	не более 3 мин	1
Твердость, Н	более 3,5	4,4-4,0-8,1-8,8
Растворение рифампицина (РН=6,8) %	не менее 75 % за 45 мин	94
Растворение рифампицина (0,1 М НСl)	не менее 75 % за 45 мин	76
Количественное содержание рифампицина, мг/таб	55,5-60-64,5	59,000
Количественное содержание изониазида, мг/таб	27,75-30-32,25	28,200

Выводы: полученные таблетки удовлетворяют требованиям нормативной документации, в сравнении с составом 1 мы изменили связующее вещество (эудрагит на повидон) и увлажняющий раствор (этиловый спирт на воду).

Нами было принято решение провести отработку аналогичного 3 состава только с небольшим изменением технологического процесса. Для улучшения процесса высвобождения рифампицина.

*Производственная рецептура
Состав 3 с компактированием*

Компоненты	НД (Нормативная документация)	Содержание в единице лек-ой формы, %	Состав на единицу лек-ой формы, мг	Состав на серию (300 г), г	Пересчет с учетом влажности и кол-го содержания АФИ, г	Примечание
Рифампицин	ГФРК I т.2, ЕФ*	23,530	60,000	69,231	70,857	к/с=98% , W=0,3%
Изониазид	ГФРК I т.2; ЕФ*	11,760	30,000	34,615	35,142	к/с=98,5%
Бетациклодекстрин	ЕФ*	16,270	41,500	47,885	56,270	W=14,9%
Кросповидон (полипласдон XL-10)	ЕФ*	13,330	34,000	39,231	39,231	-
Лактозы моногидрат	ЕФ*; БФ*	21,370	53,400	61,615	61,615	-
Маннитол	ЕФ*	7,840	20,000	23,077	23,077	-
Повидон	ЕФ*	2,308	1,119	1,291	1,291	-
Вода очищенная	ЕФ*	16,154	10,626	12,260	12,260	-
Бифендат	АНД РК 42-3016-11	2,750	7,000	8,077	8,077	-
Аскорбиновая кислота	ГФРК I т.2	1,180	3,000	3,462	3,462	-
Кальций стеарат	ГФРК I т.2, ЕФ*	1,000	2,600	3,000	3,000	-
Кремния диоксид коллоидный безводный	ГФРК I т.2; ЕФ*	1,000	2,600	3,000	3,000	-
<i>Масса таблетки, мг</i>			260,000			

Изложение технологического процесса

Подготовка сырья

1. Отобрали среднюю пробу всех субстанций, входящих в состав гранулята в количестве 10-15 г для определения показателей, указанных в таблице, и сдали в испытательную лабораторию завода.
2. Просеяли в контейнеры: изониазид через сито PS 20; бетадекс через сито PS 30; полипласдон через сито PS 30; лактозы моногидрат через сито PS 20; маннитол через сито PS 30; бифендат через сито PS 30; аскорбиновую кислоту через сито PS 20.

Приготовление 1-го гранулята

Приготовление комплекса Рифампицин- β -циклодекстрин

1. Отвесили рифампицин, пересчитанном на влагу и на количественное содержание АФИ 71,000 г.
2. Отвесили β -циклодекстрин, в количестве пересчитанном на влагу 56,269 г.
3. Втирали Рифампицин- β -циклодекстрин в течение одного часа.
4. Добавили в комплекс аскорбиновую кислоту. Перемешали в течение 10 минут.
5. Добавили полипласдон 39,231 г.
6. Загрузили гранулят в воронку роликового компактора, и установили режим компактирования.

Наименование	Параметры	Требование
Режим компактирования	Давление, тон	18-20
	Размер сита, мм	0.8

Установив сито, на гранулятор компактора, включили компактор и протерли гранулят, собирая его в контейнер.

Приготовление 2-го гранулята

Приготовление увлажняющего раствора

3. Отвесили воду очищенную в количестве 12,26 г;
4. Отвесили повидон в количестве 1,119 г.
3. Всыпали повидон в воду очищенную, перемешивали до получения прозрачного раствора.

Приготовление сухого замеса

1. Отвешали в контейнер: изониазид в количестве, пересчитанном на влагу и количественное содержание АФИ 35,142 г; маннитол 23,077 г; лактоза 64,132 г; бифендат 8,077 г.

2. Смешали изониазид, маннитол, лактозу, бифендат в течении 20 мин.

3. Влили увлажняющий раствор в полученный замес, при постоянном перемешивании в течение 10 минут

4. Высушили приготовленный замес при 45° С 15 минут в сушильном шкафу.

5. Сдали в лабораторию для определения конечной влаги замеса. Конечная влага замеса составила 1,2 %. (Удовлетворяет необходимым требованиям)

Перед опудриванием измерили насыпную плотность смеси.

Насыпная плотность до усадки – 0,590 г/см

после усадки -0,684 г/см

Показатели насыпной плотности дают нам понять, что значение после усадки превосходит значение до, следовательно это указывает на лучшее прессование при таблетировании препарата.

Опудривание таблеточной массы

1. Смешали 1-ый и 2-ой грануляты в течении 15 минут.

2. Перемешать в течение 10 минут.

3 Отвесили аспартам в количестве 2,600 г. Добавили аспартам в полученный замес и вели перемешивание в течение 10 минут.

4 Взвесили полученный замес.

Масса замеса составила 290 г. Рассчитали количество опудривающих веществ: 1 % от веса сухого замеса Са стеарата (2,90 г) и 1 % от веса сухого замеса аэросил (2,90 г). Опудривали в течение 20 минут.

Таблетирование

1. Таблетировали, подбирая режим прессования.

2. Сдали в лабораторию 40 таблеток для проверки соответствия физических параметров и определения количественного содержания АФИ в таблетках.

Таблетирование вели на лабораторном таблетпрессе Zp-8 (Китай).

Протокол испытательной лаборатории

Наименование показателей	Требование НД	Результаты анализа
Описание	Таблетки двояковыпуклой формы красного цвета	Таблетки двояковыпуклой формы красного цвета
Диаметр таблетки, мм	9	9
Средняя масса, мг	247,000-260,000-273,000	261,200
Истираемость, %	не более 1	0,3
Распадаемость, мин	не более 3 мин	1
Твердость, Н	более 3,5	4,4-4,0-8,1-8,8
Растворение рифампицина (РН=6,8) %	не менее 75 % за 45 мин	99
Растворение рифампицина (0,1 М HCl)	не менее 75 % за 45 мин	77
Количественное содержание рифампицина, мг/таб	55,5-60-64,5	58,000
Количественное содержание изониазида, мг/таб	27,75-30-32,25	28,700

Выводы : полученные таблетки удовлетворяют требованиям нормативной документации, и кроме того мы получили более улучшенное растворение рифампицина и его высвобождение и концентрации.

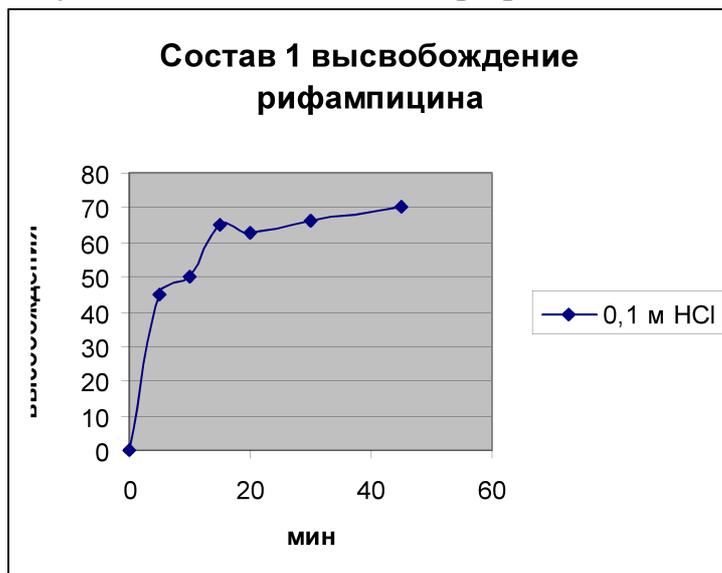
Технология компатирования позволяет более лучше встраиваться молекулам рифамицина в молекулу циклодекстрина, тем самым благодаря более улучшенным свойствам инкапсулирования это позволяет снизить токсическое действие рифампицина.

Профиль растворения состава 1 (Высвобождение рифампицина)

Таблица 7

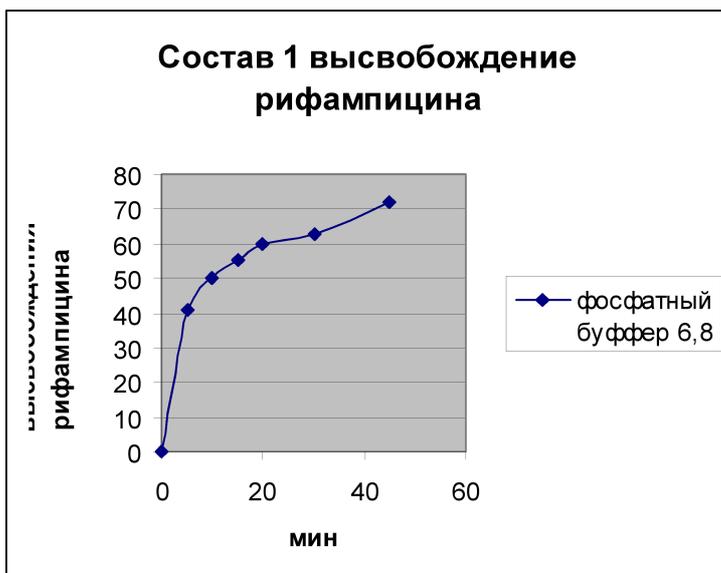
Время, мин	Среда с 0,1 М HCl (рН 1,2), растворение (%)	Фосфатный буфер(рН 6,8) растворение (%)	Фосфатный буфер (7,4) растворение (%)
5	45	41	40
10	50	50	44,4
15	65,2	55	52
20	63	60	57
30	66	63	60

Рисунок 12 Высвобождение рифампицина в 0,1 М HCl



3

Рисунок 13 Высвобождение рифампицина фосфатный буфер 6,8



Профиль растворения состава 2 (Высвобождение рифампицина)

Таблица 8

Время, мин	Среда с 0,1 М HCl (pH 1,2), растворение (%)	Фосфатный буфер (pH 6,8) растворение (%)	Фосфатный буфер (7,4) растворение (%)
5	45	55	51
10	50	62	55
15	65,2	71	66
20	63	75	77
30	66	88	88
45	70	93	92

Рисунок 14 Высвобождение рифампицина 0,1 М HCL

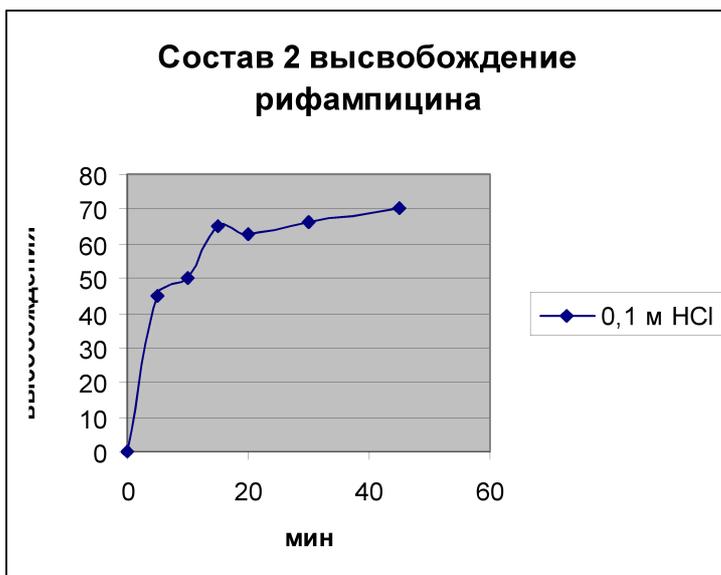
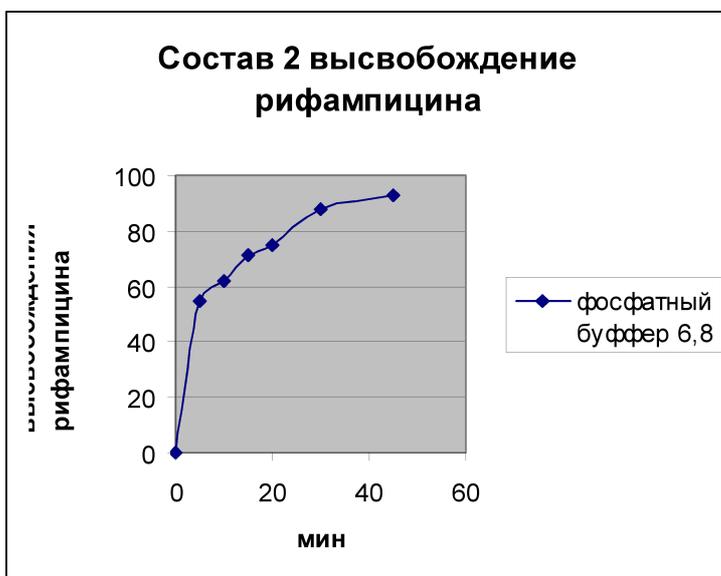


Рисунок 15



Профиль растворения состава 2 с компактированием (Высвобождение рифампицина)

Таблица 9

Время, мин	Среда с 0,1 М HCl (pH 1,2), растворение (%)	Фосфатный буфер (pH 6,8) растворение (%)	Фосфатный буфер (7,4) растворение (%)
5	45	65	66

10	50	77	71
15	65,2	88	85
20	63	93	90
30	66	95	91
45	70	99	95

Рисунок 16

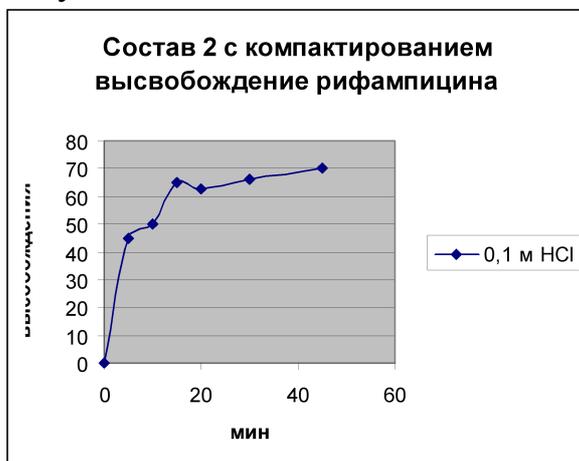
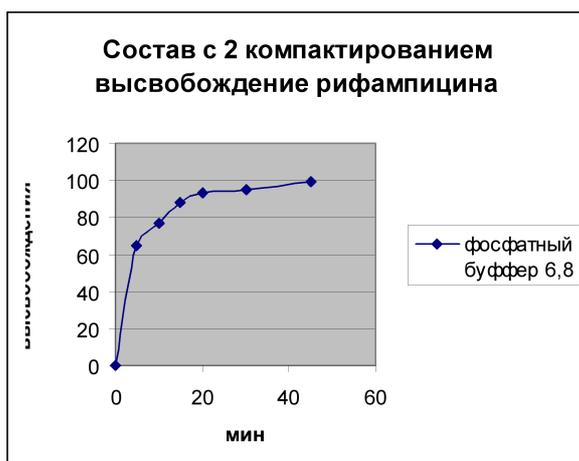


Рисунок 17



Все вспомогательные вещества описаны в официальных фармакопеях, и официально допустимы для применения в фармацевтической технологии. Все вспомогательные вещества подобраны с учетом физических и химических свойств рифампицина и изониазида. Полипласдон XL-10 обеспечивает быструю распадаемость таблеток, хорошо прессуется, что способствует получению прочных, устойчивых к истиранию таблеток. Его применяют от 2 до 20% от массы таблетки.

Вывод: Разработанная рецептурная схема состава 2 с компактированием позволяет достичь наилучшего высвобождения рифампицина, а также позволяет получить более надежную инкапсулированную форму с циклодекстрином, что позволяет улучшить эффективность действия рифампицина а также снизить токсичность действия на организм за счет включения в циклодекстрин.

На заключительном этапе наших исследований мы провели сравнение нашего препарата с препаратом сравнения субстанции рифампицин (производства Taighou Tiamput Китай).

Мы взяли для сравнения препарат с другим составом и другим технологическим процессом.

Таблица 10

Наименование компонента	Количество на 1 таблетку, г
Рифампицин	0,0600
Изониазид	0,0300
Кроскармеллоза	0,0340
Лактоза	0,0130
Маннитол	0,0200
Бифендат	0,0070
Аскорбиновая кислота	0,0030
Кальция стеарат	0,0025
Аэросил	0,0025
Масса таблетки.	0,172

В данном составе использовалась технология прямого прессования, все компоненты постепенно смешивались и затем таблетировались.

Вот результаты данного данного препарата.

Таблица 10 - Высвобождение рифампицина

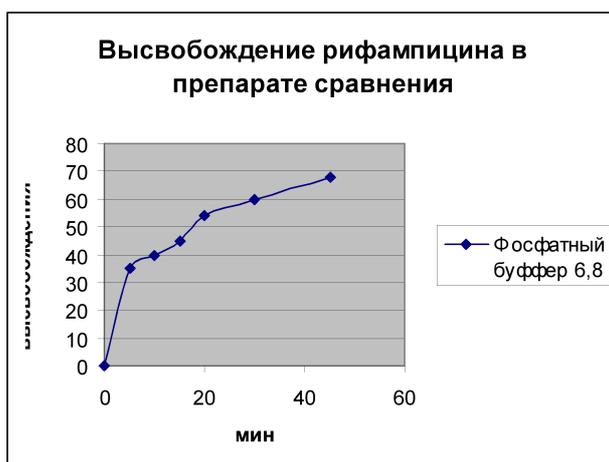
Время, мин	Среда с 0,1 М HCl (pH 1,2), растворение (%)	Фосфатный буфер(pH 6,8) растворение (%)	Фосфатный буфер (7,4) растворение (%)
5	45	35	33
10	50	40	35
15	65,2	45	45
20	63	54	53

30	66	60	61
45	70	68	65

Распадаемость таблеток составила – 4 мин.

В данном препарате еще уступает показатель распадаемости по сравнению с предыдущим составом 2 с компактированием.

Рисунок 20.



Выводы

1. Изучение свойства взаимосочетаемости и инкапсулируемости комплексобразования рифампицина с циклодекстринами выявило оптимальное их соотношение 1:1.
2. Полученные таблетки состава 2 удовлетворяют требованиям нормативной документации, в сравнении с составом 1, где было изменено связующее вещество (эудрагит на повидон) и увлажняющий раствор (этиловый спирт на воду).
3. Состав, обеспечивающий более лучшее высвобождение рифампицина состоит из активного вещества: рифампицина, изониазида; вспомогательных веществ: бетациклодекстрин, полипласдон XL-10, лактоза, бифендат, аскорбиновая кислота, маннитол, повидон, кальция стеарат, кремний диоксид коллоидный.
4. Предложенная технологическая схема с компактированием (гранулированием) рифампицина улучшает его взаимодействие с циклодекстрином.
5. Тестируемый препарат рифампицин - изониазид в сравнении с другими аналогами показывает большее высвобождение в организм рифампицина.

Список использованных источников

1. Б.Блум «Туберкулез, защита, патогенез». - :. Москва «Медицина» - 2002. – 550с.
2. Всемирный доклад ВОЗ по борьбе с туберкулезом 2012 г. Материал доступен на www.who.int.
3. Обзор ВОЗ по лекарственным противотуберкулезным препаратам в странах СНГ www.who.int.
4. Журнал «Фармацевтическая отрасль» / декабрь 2011 г. 46с.
5. Т.Дэниел «История туберкулеза» - :. Журнал Американкой ассоциации фармацевтов (AAPS) / пер. на русс. яз- 2001 50 с.
6. Ф.Хопвелл «Обзор клиники туберкулеза» -: Журнал AAPS пер. на русск.яз –
7. С.Аллен, В.Вольф «Клинические проявления туберкулеза»-:Издательство Гэотар Москва 2001.
8. Ю.Грицаенко «Патогенез и история туберкулеза»_.:автореферат, к.ф.н / Луганский медицинский университет 2007 г. 16с.
9. П.Смит «Эпидемиология туберкулёза»:- «Медицина» Москва2002 .
10. Дж. Вэйн «Культивирование M.Tuberculosis для исследовательских целей»/ Москва «Гэо-Тар», 2004 г.
11. Д.Юнг «Стратегия разработки новых препаратов»/ Москва «Медицина», 2002 г.
12. Доклад ВОЗ о лекарственно устойчивом туберкулезе 2007 г.
13. Е.Полянская «Классификация противотуберкулезных препаратов определние их методом ВЭЖХ»/ магистерская диссертация НГУ 2007 г.
14. Руководство по лекарственно-устойчивому туберкулезу Министерства Здравоохранения РФ 2001 г.
15. Доклад ВОЗ «Медикаменты для лекарственно устойчивого туберкулеза» 2009 г.
16. Фармакологический словарь «Медицина» 2008 г.
17. Презентация компании ISP
18. Послание Министра Здравоохранения РК А.Дернового 2007 г.
19. О.Рахматулина «Динамка заболеваемости в Республике Казахстан»/ Журнал Фармвестник 2009 80 с.
20. К.Жангиреева «Анализ ситуации по борьбе с туберкулезом В Казахстане»,_.:Вестник Казахской Национальной медицинской академией им.Асфендиярова с.45 2007
- 21.Н.В. Меньшутина «Инновационные технологии и оборудование фармацевтического производства»_.: «Бином» Москва 450С. 2012
- 22.А.С.Гаврилов «Фармацевтическая технология» «Гэо-тар» 2010 г.

23. Дёмина Н.Б «Биофармация- путь к созданию новых лекарств» Научно-производственный журнал «Разработка лекарственных средств» С.5-7 2013