

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КОЛІСНИК ТЕТЯНА ЄВГЕНІВНА

УДК 615.322:615.252.349.7:582.912.46:615.453.6

**РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ТАБЛЕТОК З ЕКСТРАКТОМ
ЛИСТЯ ЧОРНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України, м. Харків.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
РУБАН ОЛЕНА АНАТОЛІВНА,
Національний фармацевтичний університет, м. Харків,
завідувач кафедри заводської технології ліків.

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, доцент
КРАСНОПОЛЬСЬКИЙ ЮРІЙ МИХАЙЛОВИЧ,
Національний технічний університет «Харківський
політехнічний інститут»,
професор кафедри біотехнології і аналітичної хімії;

доктор фармацевтичних наук, професор
КУЧЕРЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА,
Запорізький державний медичний університет,
завідувач кафедри фармацевтичної хімії.

Захист дисертації відбудеться «___» _____ 2019 р. о ___ на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.02 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «___» _____ 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор фармацевтичних наук, професор

О.В. Посилкіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Цукровий діабет (ЦД) є найбільш розповсюдженою ендокринною патологією, що за рівнем поширеності та тяжкістю ускладнень віднесено до глобальних медико-соціальних проблем. Хронічна гіперглікемія, що має місце при ЦД, викликає серйозні порушення роботи багатьох органів та систем організму, з яких найчастішими є ураження серця, кровоносних судин, очей, нирок та нервів.

ЦД є однією з основних причин смертності у світі. За даними Міжнародної діабетичної федерації, у 2015 році загальносвітова кількість хворих на ЦД у віці від 20 до 79 років становила близько 415 млн, а кількість випадків смерті, пов'язаних із діабетом, сягнула майже 5 млн. В Україні, за офіційними даними станом на 1 січня 2016 року, зареєстровано 1 223 604 хворих на ЦД. Втім, за підрахунками фахівців, кількість осіб в Україні, що страждають на діабет, перевищує 2,7 млн, тобто більше половини з них мають недиагностований діабет.

Близько 90 % випадків захворювання припадає на ЦД 2 типу. Фармакотерапія цього типу діабету ґрунтується на контролі рівня глікемії пероральними цукрознижувальними засобами (ПЦЗ). Та, незважаючи на наявний на сьогодні численний арсенал ПЦЗ, ці препарати, які в абсолютній більшості є синтетичними засобами, не вирішують глобальної ситуації щодо ЦД 2 типу. Необхідність тривалого застосування, прогресуючий перебіг захворювання, потреба в інтенсифікації терапії призводять до розвитку серйозних побічних ефектів, що обмежує ефективність і безпеку лікування цієї категорії хворих.

Перспективним напрямком у підтриманні глікемічного контролю та попередженні розвитку діабетичних ускладнень є включення до схем лікування протидіабетичних препаратів рослинного походження, які характеризуються високим профілем безпеки та можуть бути ефективними на початкових стадіях захворювання як монотерапія або у комбінації із синтетичними ПЦЗ для досягнення нормоглікемії при використанні менших доз останніх. Джерелом для створення фітопрепаратів протидіабетичної дії є листя чорниці звичайної, що здавна використовувалось як гіпоглікемічний засіб народною медициною та має достатню сировинну базу на території України.

На сьогодні науково доведено, що терапевтичні властивості листя чорниці обумовлені речовинами поліфенольної структури. Завдяки своїй хімічній структурі поліфеноли здатні нейтралізувати вільнорадикальні сполуки та виявляти панкреатопротекторну дію при ЦД. Крім того, поліфеноли нормалізують рівень глікемії, безпосередньо взаємодіючи з різними білковими мішенями в тканинах організму. Втім терапевтична ефективність речовин поліфенольної природи лімітована їх невисокою біодоступністю при пероральному введенні.

Враховуючи зазначене, розробка нових протидіабетичних препаратів на основі біологічно активних речовин (БАР) листя чорниці та підвищення їх терапевтичної ефективності при ЦД є актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України (протокол № 89 від 18.02.2015 р.) і є фрагментом науково-

дослідної роботи Національного фармацевтичного університету (НФаУ) за темами «Створення нових оригінальних і комбінованих лікарських засобів для терапії цукрового діабету другого типу» (номер держреєстрації 0114U000957) та «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» (номер державної реєстрації 0114U000945). Тема дисертаційної роботи затверджена на засіданні Вченої ради НФаУ (протокол № 6 від 27.02.2015 р.).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є фармацевтична розробка лікарського препарату із сухим екстрактом листя чорниці у формі таблеток для застосування в терапії цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому зі стійкою інсулінорезистентністю.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані літератури щодо етіології та патогенетичних ланок розвитку цукрового діабету 2 типу, можливих механізмів гіпоглікемічної дії субстанцій рослинного походження, а також сучасних технологічних стратегій з підвищення біодоступності природних біологічно активних речовин;
- провести аналіз ринку препаратів для фармакотерапії цукрового діабету 2 типу з метою визначення маркетингових можливостей для вітчизняного виробника;
- дослідити фізико-хімічні та фармакотехнологічні властивості сухого екстракту листя чорниці, допоміжних речовин та модельних таблеткових мас;
- теоретично та експериментально обґрунтувати якісний і кількісний склад допоміжних речовин та метод одержання таблеток, розробити раціональну технологію таблеток;
- визначити основні показники якості та дослідити стабільність препарату в процесі зберігання, на основі чого встановити термін його придатності;
- провести оцінку фармакологічної активності розробленого лікарського препарату;
- розробити проект методик контролю якості (МКЯ) і технологічний регламент (ТР) на таблетки під умовною назвою «Міртаргін ретард» та апробувати їх у промислових умовах.

Об'єкт дослідження: сухий екстракт листя чорниці «Міртаргін», одержаний на кафедрі заводської технології ліків НФаУ, допоміжні речовини, маси для таблетування, модельні зразки таблеток та готові таблетки.

Предмет дослідження: розробка складу та раціональної технології лікарського препарату у формі таблеток із сухим екстрактом листя чорниці «Міртаргін», дослідження його властивостей, обґрунтування критеріїв якості.

Методи дослідження. У роботі були застосовані такі методи досліджень: органолептичні (зовнішній вигляд); фізико-хімічні (кристалографічні властивості порошку екстракту, термогравіметричний аналіз, ІЧ-спектроскопія); фармакотехнологічні (стираність та стійкість таблеток до роздавлювання, середня маса та однорідність маси таблеток); біофармацевтичні (дослідження вивільнення БАР сухого екстракту листя чорниці в умовах *in vitro*); мікробіологічні (дослідження мікробіологічної чистоти одержаного екстракту «Міртаргін» та розроблених таблеток у процесі зберігання); кількісний і якісний аналіз основних груп БАР

екстракту (ідентифікація методом тонкошарової хроматографії, кількісне визначення методом спектрофотометрії у видимій ділянці після проведення специфічних кольорових реакцій); фармакологічні (дослідження ефективності АФІ проти супутньої патології – ожиріння, фармакологічна оцінка розроблених таблеток як протидіабетичного засобу в порівнянні з АФІ та референтним препаратом гіпоглікемічної дії); математичні (моделювання штучних нейронних мереж з метою прогнозування вивільнення БАР екстракту з таблеток з різним складом речовин-пролонгаторів; математичне планування експерименту та дисперсійний аналіз із метою оптимізації складу допоміжних речовин і технологічних параметрів виготовлення таблеток, аналіз даних ІЧ-спектроскопії з використанням коефіцієнтів кореляції Пірсона з метою встановлення сумісності АФІ з обраними допоміжними речовинами, статистична обробка результатів).

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше для поліпшення біодоступності і терапевтичної ефективності сумарної рослинної субстанції, що являє собою сухий екстракт листя чорниці «Міртаргін», запропонована розробка пероральної пролонгованої лікарської форми у вигляді матричних таблеток.

На підставі органолептичних, фізико-хімічних, фармакотехнологічних, біофармацевтичних, мікробіологічних і фармакологічних досліджень теоретично та експериментально обґрунтовано склад і технологію пролонгованих матричних таблеток «Міртаргін ретард», що містять як АФІ сухий екстракт листя чорниці «Міртаргін».

Вперше для вибору речовин-пролонгаторів матричних таблеток з АФІ рослинного походження застосовано метод математичного моделювання за допомогою штучної нейронної мережі.

Вперше запропоновано методику оцінки ризиків, пов'язаних із допоміжними речовинами, яку застосовано для складу розробленого препарату.

Вперше методами термогравіметричного аналізу та ІЧ-спектроскопії доведено сумісність рослинного екстракту з обраними полімерними модифікаторами вивільнення. Визначено оптимальні умови зберігання та підібрано раціональну первинну упаковку таблеток, що забезпечує стабільність препарату протягом двох років. Розроблено методики ідентифікації, кількісного визначення і тесту «Розчинення», які внесено до проекту МКЯ.

За результатами проведених досліджень подано заявку на одержання патенту України на винахід від 06.06.2018 р. № а201806330 та одержано патент України на корисну модель № 130743 від 26.12.2018 р. «Фармацевтична композиція антидіабетичної дії у формі матричних таблеток».

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено новий лікарський препарат під умовною назвою «Міртаргін ретард» у вигляді матричних таблеток пролонгованої дії. Технологію розробленого препарату апробовано у промислових умовах на базі ПАТ «ХФЗ «Червона зірка» (акт від 18.09.2018 р.). Розроблено проект МКЯ і ТР на таблетки під умовною назвою «Міртаргін ретард».

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедр низки вищих фармацевтичних та медичних закладів України, а саме: кафедри аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (акт впровадження від 19.03.2018 р.),

кафедри організації та економіки фармації і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 02.04.2018 р.), кафедри технології ліків Одеського національного медичного університету (акт впровадження від 19.04.2018 р.), кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» (акт впровадження від 27.04.2018 р.), кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (акт впровадження від 13.09.2018 р.), кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (акт впровадження від 14.09.2018 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Безпосередньо автором проведено інформаційний пошук та узагальнено дані літературних джерел із досліджуваної проблеми, на підставі теоретичних даних та експериментальних досліджень обґрунтовано і розроблено склад, технологію та методики контролю якості таблеток під умовною назвою «Міртаргін ретард». Особисто автором розроблено проект МКЯ і ТР на цей препарат. Результати експериментальних досліджень та висновки статистично оброблено і систематизовано.

Персональний внесок дисертанта в усіх опублікованих працях зі співавторами (О. А. Рубан, Ю. В. Підпружниковим, А. Л. Загайком, О. М. Кошовим, С. А. Куценком, Г. Д. Сліпченко, І. В. Ковалевською, А. Б. Ольховською, Н. Ю. Філь, Д. В. Литкіним, О. І. Чумак) вказано за текстом дисертації, а також в авторефераті у списку фахових публікацій. Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належать результати досліджень і творчий доробок, зазначені у дисертації. Визначення мети та завдань, обговорення результатів проведено разом із науковим керівником. Співавтори наукових праць не захищали дисертацій, що стосуються теми цього дисертаційного дослідження.

Співавторами наукових праць дисертанта захищено такі дисертації: Рубан О. А. «Наукове обґрунтування складу та технології лікарських препаратів протиалергічної дії на основі полісахаридів смородини чорної», Харків, 2009; Підпружников Ю. В. «Використання неселективних методів та теорії інформації в контролі якості лікарських засобів», Харків, 1996; А. Л. Загайко «Порушення метаболізму ліпідів і прооксидантно-антиоксидантної системи за умов експериментального метаболічного синдрому», Харків, 2009; О. М. Кошовий «Сучасні підходи до створення лікарських засобів на основі рослин родів Евкالیпт та Шавлія», Харків, 2013; С. А. Куценко «Наукове обґрунтування складу та технології препаратів для комплексної терапії варикозної хвороби вен», Харків, 2015; Г. Д. Сліпченко «Розробка і стандартизація промислових технологій виробництва таблеток «Феррамін-Віта» та «Ехінаїт-М», Харків, 2003; І. В. Ковалевська «Розробка складу та технології препарату кардіотонічної дії в капсулах», Харків, 2009; А. Б. Ольховська «Дослідження діяльності фармацевтичних підприємств з залученням інвестицій», Харків, 1999; Н. Ю. Філь «Моделі автоматизованого проектування засобів захисту від електромагнітного випромінювання», Харків, 2007.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на: Міжнародній науково-практичній конференції «Економіка, наука, освіта: інтеграція та синергія» (Братислава, 2016 р.); II Міжнародній науково-практичній Internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2016 р.); науково-практичній конференції молодих вчених і студентів ТГМУ ім. Абуалі ібні Сіно з міжнародною участю, присвяченої 25-річчю державної незалежності Республіки Таджикистан (Душанбе, 2016 р.); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016 р.); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2016 р.); III Міжнародній науково-практичній Інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2017 р.); 47-й Міжнародній конференції «Synthesis and analysis of drugs» (Брно, Чеська республіка, 2018 р.); 9-й Міжнародній фармацевтичній конференції «Science and Practice» (Каунас, Литовська республіка, 2018).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 18 наукових праць, з них 9 статей (5 – у наукових фахових виданнях та 4 – у виданнях, включених до наукометричної бази Scopus), 8 тез доповідей і 1 патент.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 245 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, 4 розділів експериментальної частини, загальних висновків, списку використаних джерел і додатків. Обсяг основного тексту – 164 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 27 таблицями та 28 рисунками. Список використаних джерел містить 255 найменувань, з них 92 кирилицею та 163 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** дисертаційної роботи обґрунтовано актуальність обраної теми, сформульовано мету й основні завдання досліджень, визначено наукову новизну, практичне значення отриманих результатів і особистий внесок дисертанта, наведено відомості щодо впровадження та апробації результатів роботи, а також обсяг і структуру дисертації.

У **першому розділі «Перспективи створення лікарських препаратів рослинного походження для лікування цукрового діабету 2 типу (огляд літератури)»** розкрито медико-соціальну значущість ЦД 2 типу, узагальнено сучасні уявлення щодо етіології та патогенетичних ланок розвитку захворювання. Охарактеризовано механізм дії, переваги та недоліки основних класів пероральних цукрознижувальних засобів, які нині використовуються у клінічній практиці. Визначено, що абсолютна більшість цих препаратів представлена синтетичними засобами, тривалий прийом яких асоційований зі зменшенням терапевтичної ефективності та розвитком серйозних побічних ефектів. Альтернативою синтетичним засобам є препарати на основі субстанцій рослинного походження, зокрема екстрактів листя чорниці, які багаті на вміст природних поліфенолів. Недоліком рослинних засобів є їх невисока біодоступність, що у випадку екстрактів листя чорниці вірогідно обумовлено інтенсивним метаболізмом поліфенольних речовин та їх швидкою екскрецією з організму. За даними літератури визначено, що

екстракти листя чорниці здатні блокувати розщеплення і всмоктування глюкози в тонкому кишечнику, де одночасно відбувається абсорбція переважної більшості екстрактивних поліфенолів (зокрема, хлорогенової кислоти, епікатехіну, частково – рутину). Наведено сучасні технологічні підходи з поліпшення біодоступності препаратів рослинного походження, такі, як створення «новітніх систем доставки» на основі наноносіїв, розробка твердих дисперсій та лікарських форм з модифікованим вивільненням активних речовин.

У другому розділі **«Обґрунтування загальної методології досліджень. Об'єкти та методи дослідження»** на підставі фармакокінетичних та фармакодинамічних властивостей БАР екстракту листя чорниці обрано лікарську форму – пролонговані таблетки матричного типу, що дозволить зосередити вивільнення більшої частини дози екстракту в тонкому кишечнику, а крім того, сприятиме уникненню значних коливань концентрацій діючих речовин у плазмі крові, зменшенню кратності прийому препарату та, відповідно, підвищенню комплаєнтності пацієнтів. Обґрунтовано методологію створення пролонгованих таблеток матричного типу. Наведено технологію одержання АФІ – екстракту листя чорниці сухого «Міртаргін», розроблену під керівництвом проф. О. М. Кошового, та представлено його кількісні характеристики: втрата в масі при висушуванні – $(2,50 \pm 0,02) \%$; вміст суми поліфенолів (у перерахунку на пірогалол і суху масу речовини) – $(99,29 \pm 1,21) \text{ мг/г}$; вміст суми флавоноїдів (у перерахунку на рутин і суху масу речовини) – $(19,28 \pm 0,15) \text{ мг/г}$. Охарактеризовано допоміжні речовини, які використовувались при розробці матричних таблеток «Міртаргін ретард». Визначено необхідні методи дослідження з метою розробки складу і технології матричних таблеток та контролю їх якості.

У третьому розділі **«Теоретичне й експериментальне обґрунтування складу і технології матричних таблеток пролонгованої дії із сухим екстрактом листя чорниці»** на підставі маркетингового аналізу українського фармацевтичного ринку обґрунтовано доцільність розробки нового вітчизняного протидіабетичного препарату на рослинній основі. Встановлено, що фізична та соціально-економічна доступність різних класів синтетичних ПЦЗ, представлених на вітчизняному фармацевтичному ринку, суттєво різняться. Широкою номенклатурою та економічною доступністю для всіх верств населення характеризуються лише класи бігуанідів та похідних сульфонілсечовини. Решту синтетичних препаратів віднесено до доступних лише для споживачів із місячним доходом вище прожиткового мінімуму або до недоступних для більшої частини населення України. Номенклатура протидіабетичних препаратів рослинного походження представлена дуже незначною кількістю найменувань лікарських засобів, а також дієтичними добавками. Отже, можливість добору комбінованої гіпоглікемічної терапії, яка є необхідною в більшості випадків захворювання, вкрай обмежена.

На підставі даних попередніх фармакологічних досліджень гіпоглікемічної та гіполіпідемічної дії на лабораторних щурах визначено вміст сухого екстракту «Міртаргін» в 1 таблетці, що склав 275 мг із розрахунку на прийом один раз на добу. Досліджено фізико-хімічні і фармакотехнологічні характеристики сухого екстракту листя чорниці. За допомогою мікроскопічного аналізу визначено, що частинки екстракту мають форму тонких пластин із гладкою поверхнею та загостреними

краями (рис. 1). У фракційному складі порошку екстракту переважають дуже дрібні фракції. Встановлено, що плинність порошку екстракту знаходиться на межі градацій «допустима» та «незадовільна». Також отримано дуже низький показник спресовуваності сухого екстракту.



Рис. 1 Мікрофотознімок порошку сухого екстракту листя чорниці при збільшенні у 400 разів

Вивчено фармакотехнологічні властивості полімерних речовин – модифікаторів вивільнення: гідроксипропілметилцелюлози (ГПМЦ) марок Methocel K4M та Methocel K100LV та метакрилового полімеру марки Eudragit L100, а також їх бінарних сумішей (1:1) із сухим екстрактом листя чорниці. Всі досліджувані зразки характеризувалися незадовільною плинністю та недостатньою спресовуваністю. На підставі проведених досліджень як метод одержання пролонгованих матричних таблеток із сухим екстрактом листя чорниці обґрунтовано таблетування з попереднім вологим гранулюванням.

Вибір співвідношення модифікаторів вивільнення у таблетках здійснено за допомогою побудови штучної нейронної мережі (ШНМ) із використанням набору експериментальних даних вивільнення БАР екстракту на часових точках 2, 8 та 16 годин тесту «Розчинення» (табл. 1).

Тришарову ШНМ зі зворотним поширенням помилки конструювали за допомогою інструмента NNTool програмного забезпечення Matlab R2016b. Для цього набір вхідних (кількості матриксоутворювачів) та вихідних даних (відсоткове вивільнення АФІ) був випадковим чином розподілений для навчання (65%), тестування (20%) і перевірки (15%) ШНМ. Навчання ШНМ здійснювали за алгоритмом Левенберга-Марквардта. Змодельовані значення вихідних даних співставлялися з експериментальними даними шляхом розрахунку коефіцієнтів кореляції (R^2). Для вибору найбільш ефективної архітектури ШНМ було проведено низку навчальних сесій із різною кількістю вузлів у прихованому шарі (3–12). Як оптимальну архітектуру ШНМ обрано мережу з 9 вузлами прихованого шару, яка характеризувалась значеннями R^2 , найбільш наближеними до 1 для всіх наборів даних. Графіки регресії для обраної ШНМ, згенеровані за допомогою Matlab NNTool, наведені на рис. 2.

Експериментальні дані, використані для конструювання ШНМ (n = 6, P = 95 %)

№ модельного складу матричних таблеток	Вхідні дані			Вихідні дані		
	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3
1	-1	-1	0	61,50	89,76	98,86
2	+1	-1	0	24,49	60,71	76,77
3	-1	+1	0	34,18	76,09	93,47
4	+1	+1	0	12,69	40,96	54,02
5	0	0	-1	24,09	69,01	87,16
6	+1	0	-1	19,56	51,33	66,35
7	-1	0	+1	34,74	76,14	94,62
8	+1	0	+1	20,24	52,51	65,82
9	0	-1	-1	28,92	72,81	86,43
10	0	+1	-1	27,31	66,18	82,36
11	0	-1	+1	23,17	70,95	86,96
12	0	+1	+1	22,52	64,35	81,27
13	0	0	0	22,76	71,99	87,33
14	0	0	0	21,15	72,42	85,91
15	0	0	0	23,48	70,91	86,09
Вхідні дані:	Рівні:			Вихідні дані:		
	-1	0	+1			
X_1 : Вміст Methocel K4M, мг/таб.	0	32,5	65,0	Y_1 : Вивільнення після 2 год, %		
X_2 : Вміст Methocel K100LV, мг/таб.	0	32,5	65,0	Y_2 : Вивільнення після 8 год, %		
X_3 : Вміст Eudragit L100, мг/таб.	130,0	162,5	195,0	Y_3 : Вивільнення після 16 год, %		

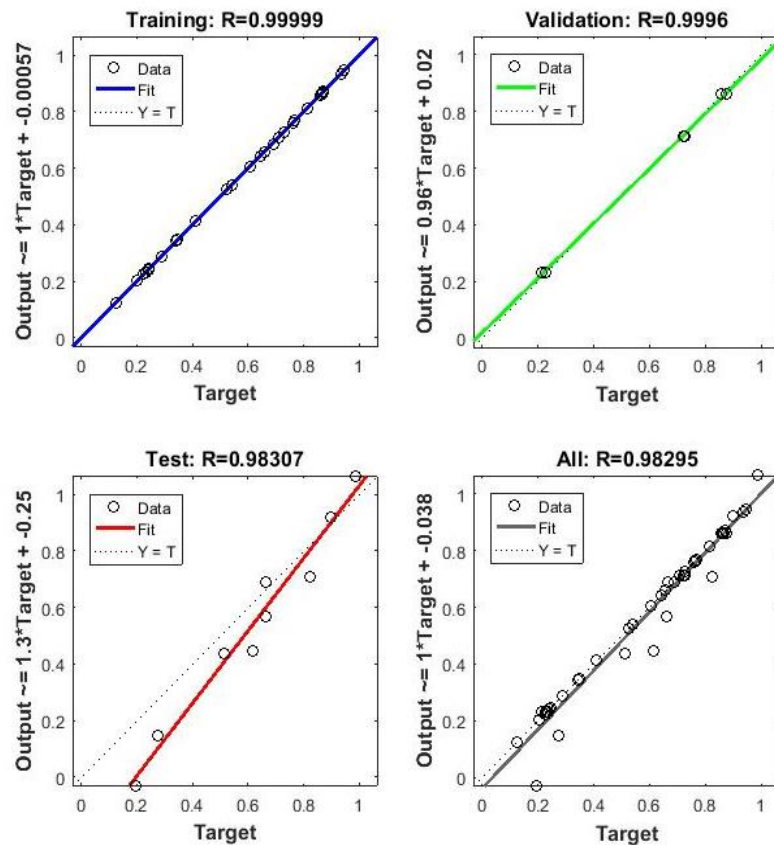


Рис. 2 Графіки регресії для обраної ШНМ, згенеровані за допомогою Matlab NNTool

Для прогнозування вивільнення з матричних таблеток із гіпотетичними співвідношеннями пролонгаторів використано функцію симулювання ШНМ, на підставі чого обрано такий склад пролонгаторів (мг/таб.): Methocel K4M – 26,0; Methocel K100LV – 26,0; Eudragit L100 – 162,5. Експериментально досліджено *in vitro*–профіль вивільнення для таблеток з обраним складом пролонгаторів (рис. 3). Із застосуванням математичних моделей кінетики нульового порядку, першого порядку, Higuchi, Hixson-Crowell та Korsmeyer-Peppas встановлено кінетику та механізм вивільнення БАР із таблеток. Найбільш відповідну математичну модель та механізм вивільнення визначали шляхом обчислення коефіцієнтів кореляції для лінійної регресії (R^2) при побудові графіків у відповідних координатах MS Excel. Отримані дані аналізу узагальнено в табл. 2.

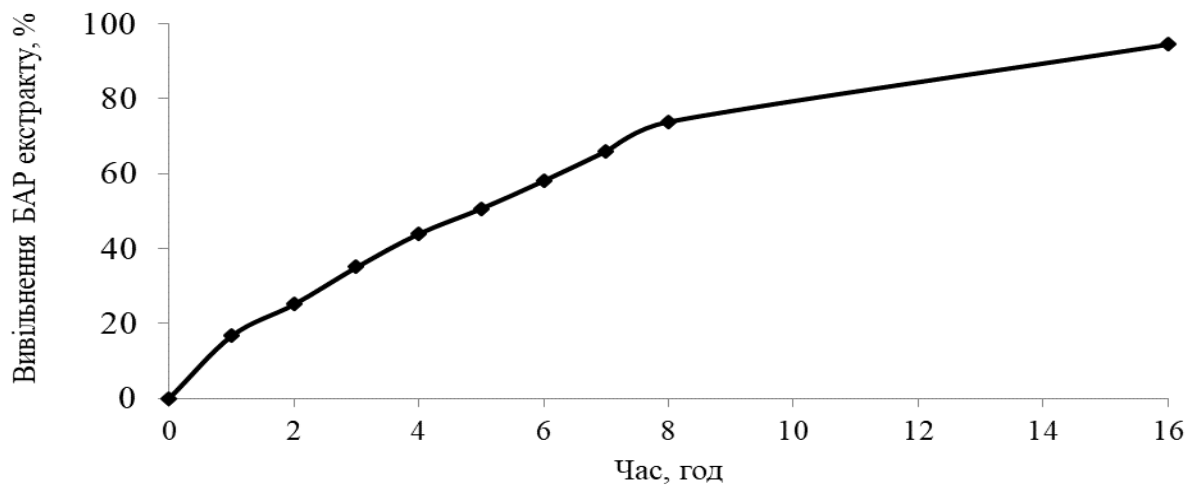


Рис. 3 Експериментальний профіль вивільнення БАР екстракту з матричних таблеток з обраним складом матриксоутворювачів

Таблиця 2

Аналіз кінетики і механізму вивільнення БАР з матричних таблеток з обраним складом матриксоутворювачів

Кінетика нульового порядку	Кінетика першого порядку	Модель Higuchi	Модель Hixson-Crowell	Модель Korsmeyer-Peppas	
R^2	R^2	R^2	R^2	R^2	n
0,8864	0,9893	0,9776	0,9935	0,9964	0,7094

Як видно з табл. 2, *in vitro* вивільнення з матричних таблеток з екстрактом листа чорниці найкращим чином характеризується моделлю Hixson-Crowell ($R^2 = 0,9935$), що вказує на ерозію матричних таблеток як основний механізм вивільнення (швидкість вивільнення визначається зміною площі поверхні і діаметра таблеток). Добра кореляція з моделлю Higuchi ($R^2 = 0,9776$) також свідчить про дифузійні механізми вивільнення. Такі висновки підтверджуються значенням експоненти n рівняння Korsmeyer-Peppas. Так, для обраного складу матриксоутворювачів у матричних таблетках $n = 0,7094$, що характеризує процес вивільнення за рахунок аномальної дифузії – поєднання процесів дифузії й ерозії.

Для оптимізації складу і технологічних параметрів виготовлення розроблених таблеток було використано метод математичного планування експерименту. Дослідження здійснювали відповідно до трифакторного дробного плану експерименту на основі латинського квадрата 4×4. Фактори та їхні рівні, що вивчалися, наведені в табл. 3.

Як відгуки досліджували такі фармакотехнологічні показники гранульованих таблеткових мас, як насипна густина до та після усадки, індекс Карра, а також стійкість таблеток до роздавлювання. Матриця планування експерименту й одержані відгуки наведені у табл. 4.

Таблиця 3

Фактори та їхні рівні, які вивчалися в процесі оптимізації складу і технології таблеток із сухим екстрактом листя чорниці

Фактори	Рівні факторів
1	2
<i>A</i> – зв’язувальні речовини	a_1 – 15 % розчин ПВП (Kollidon 25) a_2 – 13 % розчин частково прежелатинізованого крохмалю (Starch 1500) a_3 – 8 % розчин ГПМЦ (Methocel E5 Premium LV) a_4 – 15 % розчин коповідону Plasdone S-630
<i>B</i> – залишковий вологовміст маси для таблетування	b_1 – (4,0±0,1) % b_2 – (4,5±0,1) % b_3 – (5,0±0,1) % b_4 – (5,5±0,1) %
<i>C</i> – фракційний склад таблеткової маси	c_1 – суміш рівних кількостей фракцій із розмірами <0,5 мм, <1,0 і >0,5 мм, <2,0 і >1,0 мм c_2 – суміш рівних кількостей фракцій із розмірами <0,5 мм, <1,0 і >0,5 мм c_3 – <1,0 і >0,5 мм c_4 – <0,5 мм

На вільно насипану густину значуще впливає тип зв’язувальної речовини та фракційний склад таблет-маси. Її максимальні значення одержано при використанні крохмалю прежелатинізованого (ряд переваг $a_2 > a_1 = a_3 = a_4$), що пояснюється крихкістю гранул, а отже їх меншим розміром. Найкращим чином впливав фракційний склад гранулята з рівних кількостей фракцій менше 0,5 мм та фракції із розмірами менше 1,0, але більше 0,5 мм ($c_2 > c_1 = c_4 > c_3$). Для насипної густини після усадки значущим виявився лише тип зв’язувальної речовини. Максимальні значення цього відгуку одержано при використанні крохмалю прежелатинізованого (ряд переваг має вигляд $a_2 > a_3 > a_1$ та $a_2 > a_4$; незначущими є відмінності для рівнів $a_3 = a_4$ та $a_1 = a_4$). Значущий вплив на індекс Карра має лише тип зв’язувальної речовини. Найменші значення індексу Карра забезпечував ПВП; для інших речовин цей відгук був рівнозначуще більшим. При цьому середній індекс Карра для складів із ПВП характеризував їх сипкість як відмінну, а для інших допоміжних речовин – як добру. Максимальні значення стійкості до роздавлювання таблеток були одержані при використанні зв’язувальної речовини коповідону Plasdone S-630; найменш стійкими виявилися таблетки, виготовлені з використанням крохмалю прежелатинізованого ($a_4 > a_1 > a_3 > a_2$). Міцність таблеток передбачувано прямо

пропорційна вологовмісту таблет-маси, проте незначущість вологовмісту для інших відгуків свідчить про відсутність негативного впливу на насипні властивості гранулятив. Одержаний ряд переваг для рівнів вологовмісту ($b_4 = b_3 > b_2 > b_1$) дозволяє обґрунтувати недоцільність збільшення вологи таблет-маси понад 5,0%. На підставі проведених досліджень встановлено такі оптимальні параметри виготовлення матричних таблеток із сухим екстрактом листя чорниці методом вологої грануляції: використання як гранулюючої рідини 15% розчину коповідону марки Plasdone S-630; залишковий вологовміст маси для таблетування – $(4,5 \pm 0,1) \%$; фракційний склад маси для таблетування – суміш з рівних кількостей гранул розміром менше 0,5 мм та гранул, розмір яких більше 0,5, але менше 1,0 мм.

Таблиця 4

План експерименту та результати досліджень таблеткових мас і таблеток із сухим екстрактом листя чорниці

Фактори та їхні рівні			Відгуки			
<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	y_1	y_2	y_3	y_4
a_1	b_1	c_1	0,39	0,40	3,23	73,8
a_1	b_2	c_2	0,41	0,43	4,52	144,3
a_1	b_3	c_3	0,38	0,40	6,67	227,0
a_1	b_4	c_4	0,38	0,40	6,13	229,7
a_2	b_1	c_2	0,46	0,49	5,77	39,4
a_2	b_2	c_3	0,42	0,47	9,68	45,4
a_2	b_3	c_4	0,45	0,54	16,78	117,6
a_2	b_4	c_1	0,44	0,52	14,67	150,7
a_3	b_1	c_3	0,36	0,45	18,42	67,3
a_3	b_2	c_4	0,39	0,45	15,03	93,8
a_3	b_3	c_1	0,39	0,45	13,89	181,7
a_3	b_4	c_2	0,41	0,46	11,43	195,1
a_4	b_1	c_4	0,39	0,46	14,29	96,0
a_4	b_2	c_1	0,38	0,42	8,57	149,3
a_4	b_3	c_2	0,39	0,44	11,59	262,0
a_4	b_4	c_3	0,36	0,41	11,69	302,2

Примітка. y_1 – насипна густина, г/мл; y_2 – насипна густина після усадки, г/мл; y_3 – індекс Карра; y_4 – стійкість таблеток до роздавлювання, Н.

Отже, враховуючи отримані результати органолептичних, фізико-хімічних, фармакотехнологічних та біофармацевтичних досліджень, розроблено склад матричних таблеток сухого екстракту листя чорниці під умовною назвою «Міртаргін ретард» для лікування ЦД 2 типу.

Склад на одну таблетку, г:

Екстракт листя чорниці сухий «Міртаргін»

(з додаванням аргініну та міоїнозитулу,

у перерахунку на суху масу речовини)

0,2750

Метакриловий полімер марки Eudragit L100

0,1625

ГПМЦ марки Methocel K4M

0,0260

ГПМЦ марки Methocel K100LV

0,0260

Целюлоза мікрокристалічна марки Avicel PH-101

0,1280

Коповідон марки Plasdone S-630	0,0260
Магнію стеарат	0,0065
Маса таблетки	0,6500

Експериментально обґрунтовано вибір первинної упаковки, що забезпечує надійний захист таблеток від вологи повітря, – стрип-упаковка з матеріалу комбінованого на основі паперу, фольги алюмінієвої та поліетилену (буфлену). Розроблено раціональну промислову технологію виготовлення пролонгованих матричних таблеток під умовною назвою «Міртаргін ретард», згідно з якою складено технологічну схему їх виробництва (рис. 4).

Для проведення оцінки ризиків, пов'язаних із допоміжними речовинами у складі фармацевтичних препаратів, згідно з Настановою «Лікарські засоби. Формалізоване загальне оцінювання ризиків з метою встановлення відповідної належної виробничої практики для допоміжних речовин, використовуваних в лікарських препаратах для людини. СТ-Н МОЗУ 42-4.8:2016», розроблено методика, що являє собою комбінацію кількісної оцінки з використанням бальних оцінок і якісного методу ранжування ризиків. Загальний індекс ризику кожної допоміжної речовини складається з трьох компонентів: якості, безпеки та функції. Своєю чергою, кожен із трьох компонентів ризику містить у собі низку параметрів, для кожного з яких розроблено критерії оцінювання за трибальною шкалою. Загальний індекс ризику обчислюється як добуток балів компонентів ризику, які розраховуються як середнє з балів параметрів, що складають компонент. Запропонована методика була використана для оцінки ризику допоміжних речовин таблеток «Міртаргін ретард». Відповідно до одержаних результатів 3 допоміжні речовини – Methocel K4M, Methocel K100LV та магнію стеарат – характеризуються середнім рівнем ризику, решта – мають низький рівень загального ризику.

У четвертому розділі «Розробка методик контролю якості таблеток «Міртаргін ретард» та вивчення стабільності препарату» наведено основні показники якості пролонгованих таблеток матричного типу відповідно до вимог ДФУ, а саме: опис, ідентифікація, середня маса та однорідність маси таблеток, стираність, стійкість до роздавлювання, розчинення, мікробіологічна чистота та кількісне визначення. Отримані результати були внесені до проекту МКЯ препарату «Міртаргін ретард».

Розробку методик ідентифікації, кількісного визначення БАР екстракту листя чорниці у препараті «Міртаргін ретард», а також тесту «Розчинення» здійснювали на базі відділу фармацевтичної розробки та аналітичних досліджень ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»» під керівництвом начальника відділу О. В. Колісника. Ідентифікацію препарату «Міртаргін ретард» запропоновано проводити методом тонкошарової хроматографії з використанням маркерів фармакопейних стандартних зразків (ФСЗ) рутину, гіперозиду та хлорогенової кислоти. Кількісне визначення запропоновано проводити за сумарним вмістом основних груп БАР: флавоноїдів – спектрофотометрично за реакцією з алюмінію хлоридом при довжині хвилі 410 нм у перерахунку на рутин та поліфенолів – спектрофотометрично за реакцією з фосфорномолібденово-вольфрамовим реактивом у лужному середовищі при довжині хвилі 760 нм у перерахунку на пірогалол. Вміст суми флавоноїдів та суми поліфенолів в одній таблетці має бути не менше 4,15 мг та не менше 22,0 мг відповідно. Спектри поглинання, отримані при

розробці методик кількісного визначення сумарного вмісту флавоноїдів (у перерахунку на рутин) та поліфенолів (у перерахунку на пірогалол) таблеток «Міртаргін ретард», наведені на рис. 5.

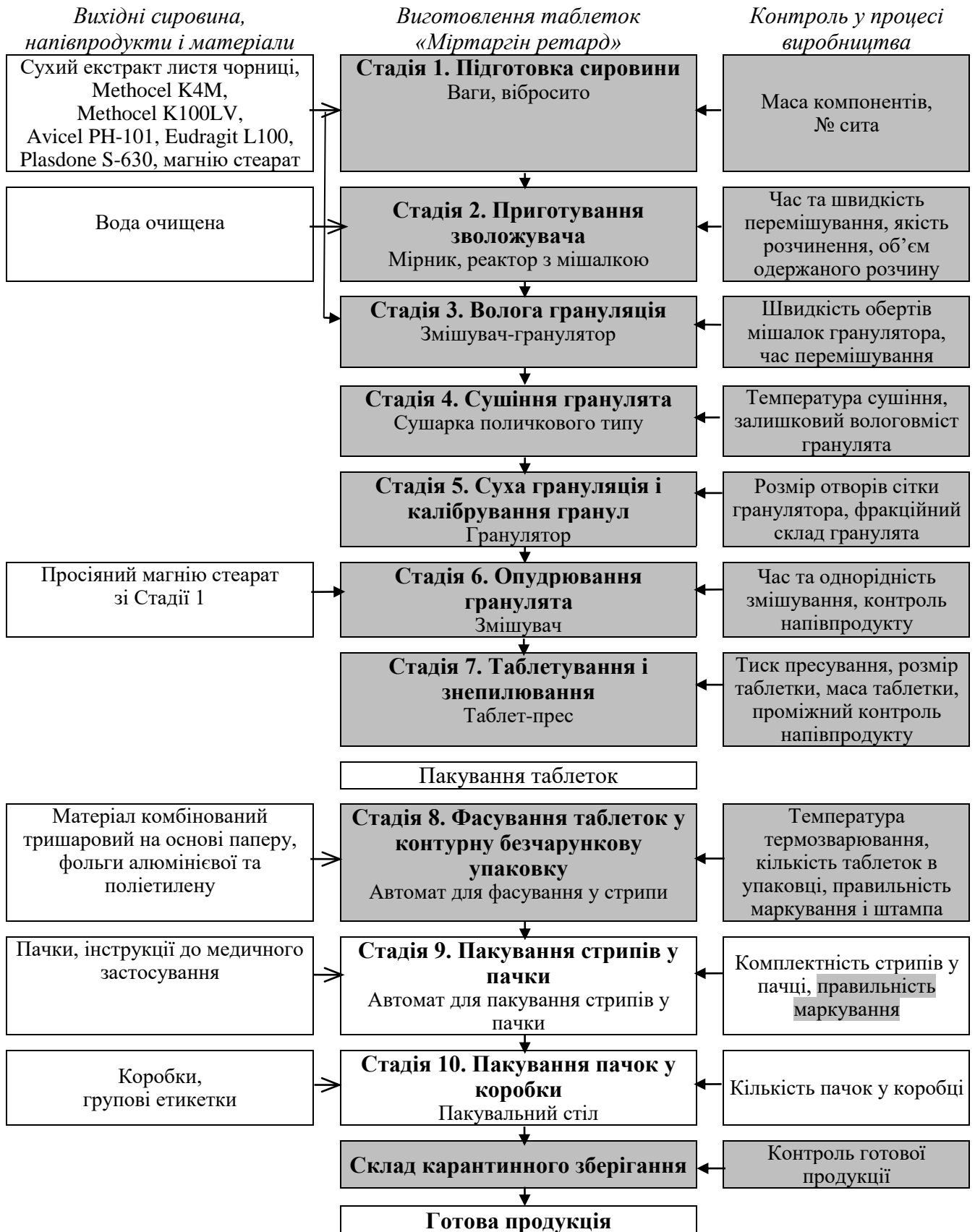


Рис. 4 Технологічна схема виробництва таблеток «Міртаргін ретард»

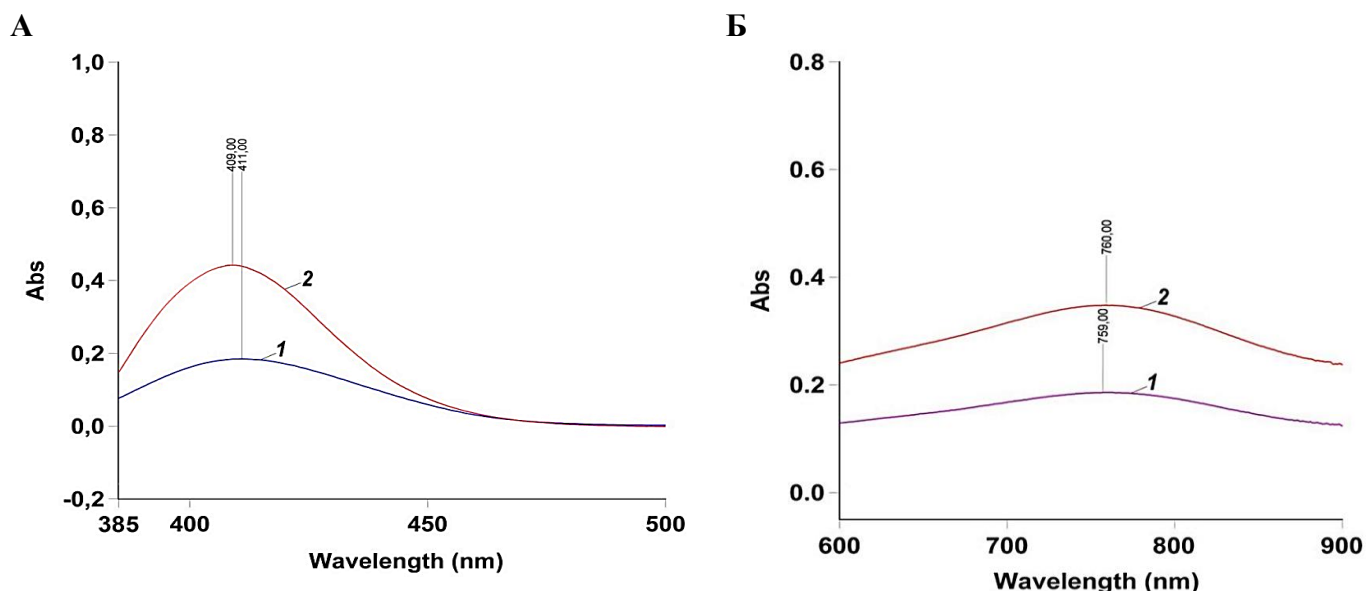


Рис. 5 Спектри поглинання, отримані при розробці методик кількісного визначення сумарного вмісту флавоноїдів (А) та поліфенолів (Б) таблеток «Міртаргін ретард»: 1 – випробовуваний розчин; 2 – розчин порівняння

Кількісне визначення основних груп БАР, що вивільнилися у тесті «Розчинення», запропоновано проводити на основі спектрофотометричного методу визначення поліфенолів у перерахунку на пірогалол. Як критерії прийнятності у тесті «Розчинення» для матричних таблеток «Міртаргін ретард» встановлені значення вивільнення БАР: не більше 30 % за 2 год тесту (у середовищі 0,1 розчину кислоти хлористоводневої рН 1,2); від 60 до 85 % за 8 год тесту (у середовищі фосфатного буферного розчину рН 6,8); не менше 90 % за 16 год тесту (у середовищі фосфатного буферного розчину рН 6,8).

На базі Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України під керівництвом старшого наукового співробітника О. В. Ващенко досліджено сумісність сухого екстракту листя чорниці з обраними допоміжними речовинами методом термогравиметрії. Дані термогравиметричного аналізу свідчили про сумісність АФІ у бінарних сумішах (1:1) із полімерними пролонгаторами, Plasdone S-630 та Avicel PH-101, але вказували на можливу взаємодію з магнію стеаратом. Із метою верифікації одержаних результатів застосовано метод інфрачервоної (ІЧ) спектроскопії з використанням кореляційного аналізу Пірсона: експериментальний спектр кожної бінарної суміші порівнювали з теоретичним спектром у спектральній ділянці «відбитків пальців» та розраховували коефіцієнти кореляції Пірсона. Експериментальні ІЧ-спектри пропускання отримували на базі Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України під керівництвом наукового співробітника Д. С. Софронова. Результати наведено на рис. 6.

Істотні відхилення виявлені для бінарної суміші АФІ з магнію стеаратом. Найбільш значуща зміна спостерігалася на ділянці біля 1700 см^{-1} і проявлялася у вигляді чіткого піка, який був відсутній на спектрах індивідуальних зразків. Зіставляючи спектральну ділянку, на якій зафіксовано цей пік, зробили висновок

про його відповідність коливанню С–О групи аліфатичної кислоти. За літературними джерелами, така твердофазна взаємодія магнію стеарату, в результаті якої утворюється стеаринова кислота, може мати місце з речовинами, молекули яких мають аміногрупи, а в цьому випадку – *L*-аргініном, що входить до складу екстракту як допоміжна речовина. Однак ця взаємодія виявлена при високому вмісті магнію стеарату в суміші (1:1), тоді як у розробленому складі таблеток він міститься у значно меншій кількості – 1,0 %, тому така взаємодія, очевидно, матиме місце дуже незначною мірою. Крім того, не було виявлено ніяких ознак деградації АФІ в присутності магнію стеарату. Тобто, магнію стеарат може використовуватись у складі таблеток «Міртаргін ретард», однак обов'язковим є підтвердження стабільності препарату при зберіганні як в умовах навколишнього середовища, так і в стресових умовах.

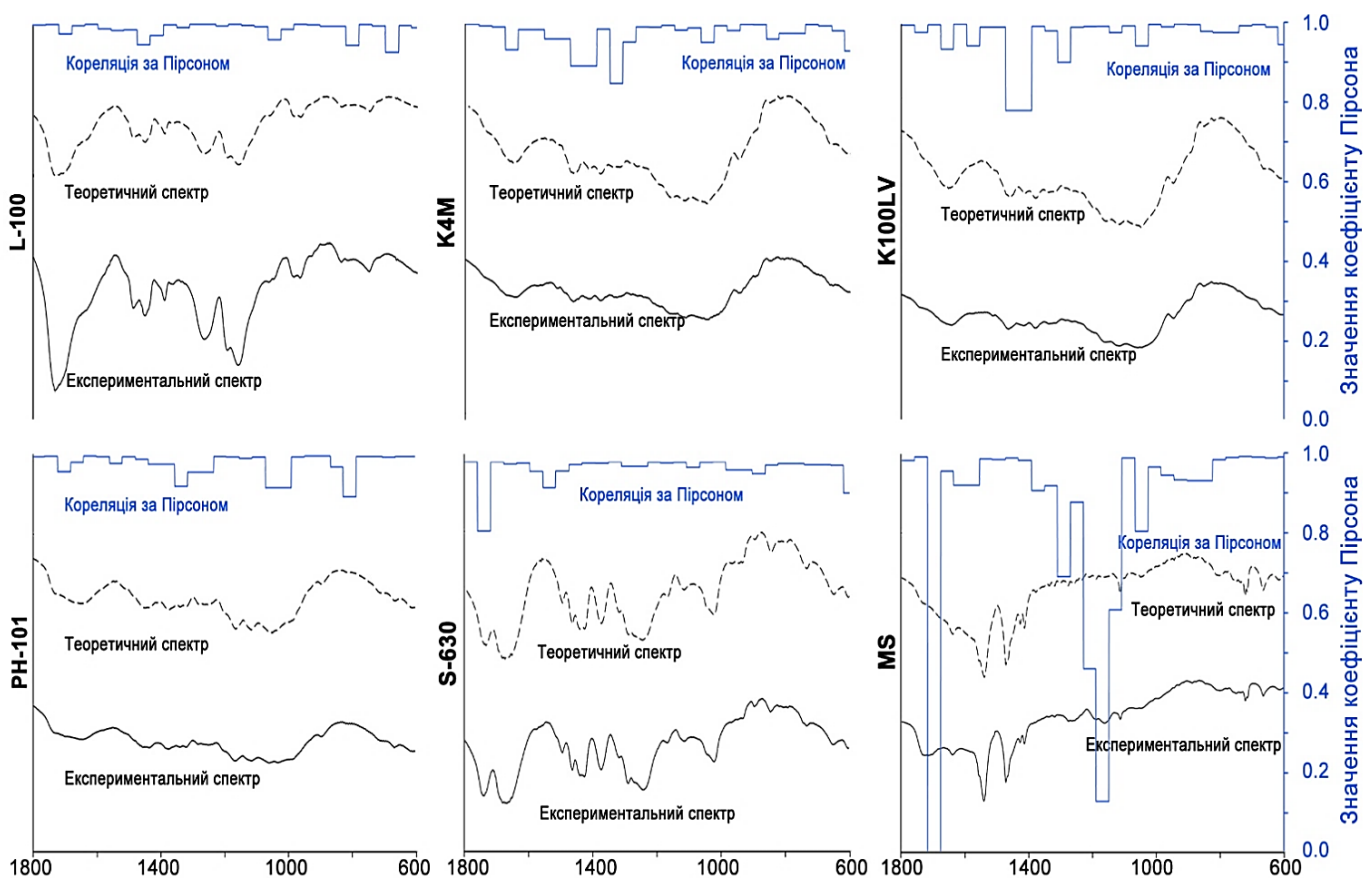


Рис. 6 Кореляційний аналіз експериментальних та теоретичних ІЧ-спектрів (1800–600 cm^{-1}) бінарних сумішей АФІ з Eudragit L100 (L-100), Methocel K4M (K4M), Methocel K100LV (K100LV), Avicel PH-101 (PH-101), Plasdone S-630 (S-630) та магнію стеарату (MS) за коефіцієнтом Пірсона

Вивчено стабільність розроблених таблеток у первинній упаковці при двох температурних режимах. Упродовж 27 місяців зберігання доведена відсутність будь-яких значних змін, які б могли вплинути на якість лікарського засобу, на підставі чого встановлено рекомендований термін зберігання – 2 роки при температурі не вище 25°C.

У п'ятому розділі «Обговорення результатів фармакологічних досліджень сухого екстракту листа чорниці «Міртаргін» та розроблених таблеток «Міртаргін ретард»» висвітлені результати фармакологічних досліджень АФІ (сухого екстракту листа чорниці «Міртаргін») та розроблених таблеток «Міртаргін ретард», проведені на базі Центральної науково-дослідної лабораторії (ЦНДЛ) НФаУ під керівництвом проф. А. Л. Загайко. У дослідженні на моделі експериментального аліментарного ожиріння у сирійських хом'яків встановлено, що сухий екстракт листа чорниці в дозах 25 та 35 мг/кг чинить помірну дію проти набирання ваги та збільшення маси вісцеральної жирової тканини, а також має істотний позитивний вплив на нормалізацію порушень ліпідного обміну. На моделі експериментального метаболічного синдрому зі стійкою інсулінорезистентністю у сирійських хом'яків проведена фармакологічна оцінка таблеток «Міртаргін ретард» як протидіабетичного засобу в порівнянні з АФІ та референтним препаратом синтетичного походження – таблетками воглібози («Воксид», таблетки по 0,2 мг, виробництва ТОВ «Кусум Фарм», Україна). Визначено, що розроблені таблетки перевершують за ефективністю АФІ та практично не поступаються референтному засобу. Одержані результати доводять, що пролонговані матричні таблетки «Міртаргін ретард» покращують біодоступність і терапевтичну ефективність БАР сухого екстракту листа чорниці.

Отже, розроблений препарат «Міртаргін ретард» може бути рекомендований для подальших клінічних випробувань та упровадження в клінічну практику як новий коректор вуглеводного та ліпідного обміну при ожирінні, метаболічному синдромі та ЦД 2 типу.

ВИСНОВКИ

На підставі проведених теоретичних та експериментальних досліджень вперше науково обґрунтовано склад і розроблено технологію та методи стандартизації нового протидіабетичного препарату «Міртаргін ретард» у формі таблеток пролонгованої дії, що містять як АФІ сухий екстракт листа чорниці.

1. Проаналізовано й узагальнено дані літератури щодо етіології та патогенетичних ланок розвитку цукрового діабету 2 типу, можливих механізмів гіпоглікемічної дії субстанцій рослинного походження, а також сучасних технологічних стратегій із підвищення біодоступності природних біологічно активних речовин.

2. За результатами проведеного маркетингового аналізу вітчизняного ринку синтетичних пероральних цукрознижувальних засобів та протидіабетичних препаратів на рослинній основі встановлено доцільність створення нового протидіабетичного препарату із сухим екстрактом листа чорниці у сучасній високоефективній лікарській формі.

3. За результатами досліджень фізико-хімічних та фармакотехнологічних властивостей сухого екстракту листа чорниці «Міртаргін», допоміжних речовин (модифікаторів вивільнення) і таблеткових мас на їх основі як метод одержання таблеток обґрунтовано таблетування з попередньою вологою грануляцією.

4. Із метою створення ефективного лікарського препарату за результатами

проведених фізико-хімічних, фармакотехнологічних та біофармацевтичних досліджень при застосуванні методів математичного моделювання та дисперсійного аналізу експериментальних даних обґрунтовано якісний та кількісний склад допоміжних речовин препарату:

- за результатами вивільнення в умовах *in vitro* з модельних таблеток із застосуванням методу математичного моделювання шляхом побудови штучної нейронної мережі обрано склад пролонгаторів, що забезпечує оптимальний профіль вивільнення БАР сухого екстракту листя чорниці з матричних таблеток: ГПМЦ марки Methocel K4M – 26,0 мг/таб.; ГПМЦ марки Methocel K100LV – 26,0 мг/таб.; метакрилового полімеру марки Eudragit L100 – 162,5 мг/таб.;

- за результатами фізико-хімічних та фармакотехнологічних досліджень із застосуванням методу математичного планування експерименту та дисперсійного аналізу експериментальних даних обґрунтовано використання зв'язувальної речовини – коповідону марки Plasdone S-630 у складі таблеток, залишковий вологовміст таблеткової маси – $(4,5 \pm 0,1) \%$ та її фракційний склад – рівні кількості гранул розміром менше 0,5 мм і гранул, розмір яких більше 0,5, але менше 1,0 мм;

- запропоновано нову методику оцінки ризиків, пов'язаних з допоміжними речовинами, за допомогою якої встановлені рівні ризику для всіх обраних до складу розроблюваних таблеток допоміжних речовин;

- теоретично й експериментально обґрунтовано і розроблено раціональну технологію промислового виробництва таблеток під умовною назвою «Міртаргін ретард» для лікування цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.

5. Із метою стандартизації розробленого препарату запропоновано методики контролю якості, серед яких ідентифікація методом тонкошарової хроматографії, кількісне визначення основних груп БАР методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці та методика тесту «Розчинення», які внесено до проекту МКЯ. На підставі термогравіметричного аналізу та ІЧ-спектроскопії із застосуванням кореляційного аналізу Пірсона доведено сумісність АФІ з обраними допоміжними речовинами. Досліджено стабільність розробленого лікарського препарату та підтверджено його придатність протягом 2–х років зберігання.

6. Проведеними фармакологічними дослідженнями встановлено помірну дію АФІ препарату проти супутньої патології – ожиріння. Здійснено *in vivo* оцінку розроблених таблеток як протидіабетичного засобу в порівнянні з АФІ та референтним препаратом – таблетками воглібози. Доведено, що розроблена лікарська форма сприяє підвищенню біодоступності і терапевтичної ефективності БАР сухого екстракту листя чорниці.

7. Складено технологічний регламент на препарат «Міртаргін ретард» у формі матричних таблеток з пролонгованим вивільненням. Розроблену технологію виробництва препарату та методики контролю якості апробовано в промислових умовах на базі ПАТ «ХФЗ «Червона Зірка».

Список опублікованих праць за темою дисертації

Статті

1. Рубан О. А., Колісник Т. Є., Сліпченко Г. Д., Ковалевська І. В. Вивчення технологічних властивостей сухого екстракту для розробки нового протидіабетичного препарату. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24 (5). С. 218–223. (Особистий внесок: участь у плануванні та виконанні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
2. Рубан Е. А., Колисник Т. Е., Слипченко Г. Д. Перспективы создания противодиабетических препаратов на основе полифенолов: механизмы гипогликемического действия и фармакокинетика. *Annals of Mechnikov Institute*. 2015. № 4. С. 17–24. (Особистий внесок: аналіз і обробка літературних даних, підготовка статті до публікації). (*Index Copernicus*).
3. Колісник Т. Є., Рубан О. А., Ольховська А. Б. Маркетингове обґрунтування доцільності розробки нового лікарського препарату на рослинній основі для лікування цукрового діабету другого типу. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 3. С. 86–96. (Особистий внесок: аналіз і обробка літературних даних, підготовка статті до публікації). (*Index Copernicus*).
4. Kolisnyk T. Ye., Ruban O. A., Fil N. Yu., Kutsenko S. A. Application of an Artificial Neural Network for Design of Sustained-Release Matrix Tablets Containing Vaccinium Myrtillus Leaf Powder Extract. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 2018. Vol. 12. P. 137–145. (Особистий внесок: планування експерименту, підготовка дослідних зразків, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації). (*Scopus*).
5. Рубан О. А., Колісник Т. Є., Сліпченко Г. Д. Застосування методу математичного планування експерименту при оптимізації складу та технології матриксних таблеток із сухим екстрактом листя чорниці. *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 2. С. 41–47. (Особистий внесок: планування експерименту, підготовка дослідних зразків, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації). (*Index Copernicus*).
6. Pidpruzhnykov Yu., Ruban O., Kolisnyk T. A New Method for Risk Assessment of Pharmaceutical Excipients. *Pharmaceutical Technology*. 2018. Vol. 42(3). P. 38–44. (Особистий внесок: аналіз і обробка літературних даних, підготовка статті до публікації). (*Scopus*).
7. Ruban O., Pidpruzhnykov Y., Kolisnyk T. Excipient risk assessment: possible approaches to assessing the risk associated with excipient function. *Journal of Pharmaceutical Investigation*. 2018. Vol. 48. P. 421–429. (Особистий внесок: аналіз і обробка літературних даних, підготовка статті до публікації). (*Scopus*).
8. Kolisnyk T., Lytkin D., Zagayko A., Ruban O. Pharmacological evaluation of sustained release matrix tablets containing Vaccinium myrtillus leaf dry extract as an alpha-glucosidase inhibitory drug. *Український біофармац. журн.* 2018. № 2. С. 49–55. (Особистий внесок: планування експерименту, підготовка дослідних зразків, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації). (*Index Copernicus*).
9. Evaluation of anti-obesity and lipid-lowering properties of Vaccinium myrtillus leaves powder extract in a hamster model / A. L. Zagayko, T. Ye. Kolisnyk, O. I. Chumak, O. A. Ruban, O. M. Koshovyi. *Journal of Basic and Clinical Physiology and*

Pharmacology. 2018. Vol. 29(6). P. 697–703. (Особистий внесок: планування експерименту, підготовка дослідних зразків, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації). (*Scopus*).

Патенти

10. Рубан О. А., Кошовий О. М., Загайко А. Л., Колісник Т. Є., Литкін Д. В. Фармацевтична композиція антидіабетичної дії у формі матричних таблеток: пат. 130743 України на корисну модель: МПК А61К 36/45, А61К 31/195, А61К 9/20, А61Р 3/10. № у 2018 06328 ; заявл. 06.06.2018 ; опубл. 26.12.2018, Бюл. № 24. Рубан О. А., Кошовий О. М., Загайко А. Л., Колісник Т. Є., Литкін Д. В. Фармацевтична композиція антидіабетичної дії у формі матричних таблеток: заявка а 2018 06330 на одержання патенту України на винахід від 06.06.2018. (Особистий внесок: патентний пошук, планування експерименту, участь у проведенні досліджень і оформленні патентної заявки).

Тези

11. Колисник Т. Е., Рубан Е. А. Актуальность разработки гипогликемических препаратов модифицированного высвобождения на основе полифенольных субстанций. *Економіка, наука, освіта: інтеграція та синергія*: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Братислава, 18–21 січ. 2016 р.: у 3-х т. Т. 3. Київ: Вид-во «Центр навчальної літератури», 2016. С. 96.

12. Колісник Т. Є., Рубан О. А. Терапевтичний потенціал препаратів листя чорниці у лікуванні цукрового діабету. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали II Міжнар. наук.-практ. Internet-конф., Харків, 21-23 берез. 2016 р. Харків: НФаУ, 2016. С. 131–133.

13. Колисник Т. Е. Разработка таблеток пролонгированного действия на основе экстракта листьев черники для лечения сахарного диабета. *Медицинская наука: достижения и перспективы*: материалы науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с междунар. участием, посвящ. 25-летию государственной независимости Республики Таджикистан, 29 апр. 2016 г. Душанбе, 2016. С. 342.

14. Рубан О. А., Колісник Т. Є., Колісник О. В. Технологічні підходи до створення протидіабетичного препарату у вигляді матричних таблеток на основі сухого екстракту листя чорниці. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13–16 верес. 2016 р. Харків, 2016. Т. 1. С. 276.

15. Колісник Т. Є., Рубан О. А. Дослідження впливу пролонгаторів на вивільнення активних речовин з матричних таблеток на основі субстанції. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р., Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 120–121.

16. Колісник Т. Є., Рубан О. А. Математичне планування експерименту з вибору допоміжних речовин таблеток з екстрактом листя чорниці. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 14-15 листоп. 2017 р., Харків:

НФаУ, 2017. С. 104–105.

17. Kolisnyk T., Ruban O. Design and evaluation of antidiabetic sustained release matrix tablets containing herbal extract. *Synthesis and analysis of drugs: Abstracts of 47th Conference*, Brno, September 12–14, 2018. Czech Republic, Brno: University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, 2018. P. 55.

18. Kolisnyk T. Ye., Ruban O. A., Slipchenko G. D. Formulation of sustained release matrix tablets as an approach to improve antidiabetic efficacy of *Vaccinium myrtillus* leaf extract. *Science and Practice: Book of Abstracts of 9th International Pharmaceutical Conference*, Kaunas, November 9, 2018. Lithuania, Kaunas: Lithuanian University of Health Sciences, 2018. P. 42.

АНОТАЦІЯ

Колісник Т. Є. Розробка складу та технології таблеток з екстрактом листя чорниці звичайної для лікування цукрового діабету. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2019.

Робота присвячена розробці нового вітчизняного препарату із сухим екстрактом листя чорниці у формі пролонгованих таблеток матричного типу для лікування цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому зі стійкою інсулінорезистентністю.

На підставі результатів органолептичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних, біофармацевтичних та фармакологічних досліджень обґрунтовано склад допоміжних речовин таблеток, а саме (мг/таб.): метакрилового полімеру марки Eudragit L100 – 162,5, ГПМЦ марки Methocel K4M – 26,0, ГПМЦ марки Methocel K100LV – 26,0, целюлози мікрокристалічної марки Avicel PH-101 – 128,0, магнію стеарату – 6,5. Розроблено раціональну технологію пролонгованих таблеток матричного типу для лікування ЦД 2 типу та досліджено основні показники їх якості.

Розроблено ТР і проект МКЯ на препарат «Міртаргін ретард».

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, метаболічний синдром, листя чорниці, сухий екстракт, таблетки, модифіковане вивільнення, склад, технологія, стабільність, гіпоглікемічна дія.

АННОТАЦИЯ

Колиснык Т. Е. Разработка состава и технологии таблеток с экстрактом листьев черники обыкновенной для лечения сахарного диабета. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.01 – технология лекарств, организация фармацевтического дела и судебная фармация. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2019.

Работа посвящена разработке нового отечественного препарата с сухим экстрактом листьев черники «Миртаргин» в форме пролонгированных таблеток

матричного типа для лечения сахарного диабета 2 типа и метаболического синдрома с устойчивой инсулинорезистентностью.

На основании результатов органолептических, физико-химических, фармако-технологических, биофармацевтических и фармакологических исследований обоснован состав вспомогательных веществ таблеток, а именно (мг/таб.): метакрилового полимера марки Eudragit L100 – 162,5, ГПМЦ марки Methocel K4M – 26,0, ГПМЦ марки Methocel K100LV – 26,0, целлюлозы микрокристаллической марки Avicel PH-101 – 128,0, магния стеарата – 6,5. Разработана рациональная технология пролонгированных таблеток матричного типа для лечения СД 2 типа и исследованы основные показатели их качества.

Разработаны ТР и проект МКК на препарат «Миртаргин ретард».

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, метаболический синдром, листья черники, сухой экстракт, таблетки, модифицированное высвобождение, состав, технология, стабильность, гипогликемическое действие.

SUMMARY

Kolisnyk T. Ye. Development of composition and technology of the tablets with *Vaccinium myrtillus* leaf extract for diabetes mellitus treatment. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a candidate of pharmaceutical science degree in specialty 15.00.01 – drugs technology, organization of pharmacy and judicial pharmacy. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The thesis is devoted to the development of composition and technology of the new domestic preparation with *Vaccinium myrtillus* leaf dry extract «Myrtargin» in the form of prolonged matrix-type tablets for the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and metabolic syndrome with persistent insulin resistance.

The prospects of the use *Vaccinium myrtillus* leaf extracts in the treatment of T2DM are discussed. Based on the available in scientific literature pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of biologically active substances (BAS) of bilberry leaf extract, the dosage form – prolonged matrix-type tablets – was selected, that would allow releasing most of the extract dose in the small intestine and, in addition, contributing to avoiding significant fluctuations in plasma blood concentrations of BAS, reducing the multiplicity of drug administration and, accordingly, increasing the patients' compliance.

The results of theoretical and experimental studies on the selection of excipients composition of the tablets are presented. Taking into account the physicochemical and pharmaco-technological characteristics of the active pharmaceutical ingredient – bilberry leaf dry extract «Myrtargin», the chosen release modifiers, as well as their binary mixtures (1:1) the wet granulation was substantiated as a method for obtaining prolonged matrix-type tablets. The selection of the ratio of release modifiers in tablets was accomplished by constructing an artificial neural network using a set of experimental data on the release of extract BAS at time points of 2, 8 and 16 hours of the «Dissolution» test. To predict the release of matrix tablets with hypothetical ratios of prolonging agents, the artificial neural network simulation function was used, based on which the following ratios of prolonging agents was selected (mg per tablet): Methocel K4M – 26.0; Methocel K100LV – 26.0; Eudragit L100 – 162.5. The in vitro release profile for the tablets with the selected ratios of

prolonging agents has been experimentally investigated. With the use of zero-order kinetics, first-order kinetics, Higuchi, Hixson-Crowell and Korsmeyer-Peppas mathematical models the kinetics and release mechanism of BAS from the tablets was established.

By the method of the design of experiment using three-factor dispersion analysis, the optimal parameters for the manufacture of the tablets through wet granulation, such as type of binder agent in the granulating liquid, residual moisture content of tableting mass and the fractional composition of the tableting mass were substantiated.

The choice of primary package – a strip pack made from combined material on the basis of paper, aluminum foil and polyethylene, which provides reliable protection of the tablets from the environmental humidity, was experimentally substantiated. The rational industrial technology for the manufacture of prolonged matrix-type tablets under the conventional name «Myrtargin retard» was developed, according to which the technological scheme of their production was constructed.

The method for the assessment of the risks associated with excipients has been developed and applied for the excipients of «Myrtargin retard» tablets.

The methods for quality control of the tablets with prolonged action «Myrtargin retard» have been developed: identification – by thin layer chromatography method; determination of the quantitative content of the main groups of BAS – flavonoids and polyphenols – by spectrophotometry method in the visible region; quantitative determination of BAS released in «Dissolution» test – based on the spectrophotometric method for the determination of polyphenols.

The quality attributes for the developed tablets are determined according to the requirements of the SPhU: characters, identification, average mass and uniformity of mass, friability, resistance to crushing, dissolution, microbiological purity and quantitative content. The compatibility of bilberry leaf dry extract «Myrtargin» with selected excipient was investigated by the method of thermogravimetric analysis and IR spectroscopy using Pearson correlation analysis. The stability of the developed tablets has been proved and their shelf life is set to 2 years at a temperature not exceeding 25°C, when stored in the primary packaging.

In the study on the model of experimental alimentary obesity in Syrian hamsters it was found that bilberry leaf dry extract «Myrtargin» in the doses of 25 and 35 mg/kg has a moderate effect against weight gain and visceral fat tissue increase, and also has a significant positive effect on the normalization of lipid metabolism disorders. On the model of the experimental metabolic syndrome with persistent insulin resistance in Syrian hamsters a pharmacological evaluation of the «Myrtargin retard» tablets as an antidiabetic agent in comparison with API and the reference drug of synthetic origin – voglibose tablets («Voksid» 0.2 mg, manufactured by Kusum Pharm LLC) was performed. It is determined that the developed tablets are more effective than API and are practically do not inferior to the reference drug. The obtained results prove that the developed dosage form – prolonged-release matrix tablets – improves the bioavailability and therapeutic efficiency of bilberry leaf dry extract BAS.

Key words: type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, *Vaccinium myrtillus* leaves, dry extract, tablets, modified release, composition, technology, stability, hypoglycemic action.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт
БАР – біологічно активні речовини
ГПМЦ – гідроксипропілметилцелюлоза
ДФУ – Державна фармакопея України
ІЧ – інфрачервоний
МКЯ – методики контролю якості
МОЗ – Міністерство охорони здоров'я
НАН – Національна академія наук
НФаУ – Національний фармацевтичний університет
ПВП – полівініліролідон
ТР – технологічний регламент
ТШХ – тонкошарова хроматографія
ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок
ЦД – цукровий діабет
ЦНДЛ – Центральна науково-дослідна лабораторія
ШНМ – штучна нейронна мережа