

РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА: ПРЕПАРАТЫ ГЛИКЛАЗИДА, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Стороженко С.Е.¹, Степанова Э.Ф.², Ларионова И.А.¹, Поткина Н.А.¹, Малахова Л.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, e-mail: panisher-13@mail.ru;

²Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Пятигорск, e-mail: efstepanova@yandex.ru

Сахарный диабет 2 типа представляет собой тяжелое, прогрессирующее заболевание, опасное своими микро- и макрососудистыми осложнениями. Вопросы лечения СД 2 типа актуальны для огромного числа людей: высокие темпы роста заболеваемости позволяют говорить о глобальной эпидемии диабета. Поэтому значительное расширение ассортимента противодиабетических лекарственных средств - вполне аргументированная позиция. Появление новых лекарственных средств, как следствие, повлекло за собой поиски и, конечно, подробное изучение оригинальных лекарственных форм, их разработку, технологию, анализ. Одним из достойных представителей фармацевтического рынка антидиабетических препаратов в настоящее время является гликлазид. В данной статье рассматриваются инновационные лекарственные формы гликлазида – трансдермальный пластырь и суспензия. При производстве лекарственных препаратов одним из основных показателей качества является микробиологическая стабильность. С целью определения микробиологической стабильности исследуемые образцы были проанализированы по показателям «Общее число аэробных бактерий, дрожжевых и плесневых грибов», «Количество бактерий *S. aureus*», «Количество бактерий *P. aeruginosa*», «Количество бактерий *E. Coli*». Отмечены особенности проведения испытаний. Также в статье приведены требования к качеству трансдермального пластыря и суспензии для внутреннего применения по показателю «Микробиологическая чистота» в соответствии с Государственной фармакопеей РФ XIV. В состав пластыря в качестве консерванта вводился спирт этиловый 95%, в качестве консерванта в состав суспензии добавляли натрия бензоат и сорбит калия в трех концентрациях: 0,05%; 0,01%; 0,02% от массы лекарственной формы. Проведены исследования разработанных лекарственных форм по показателю «Микробиологическая чистота», в соответствии с Государственной фармакопеей XIV издания. Определена оптимальная концентрация консерванта натрия бензоата – 0,05% от массы лекарственной формы.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, гликлазид, суспензия, трансдермальный пластырь, микробиологическая стабильность.

DEVELOPMENT OF INNOVATIVE MEDICINE FORMS FOR THE TREATMENT OF DIABETES MELLITUSES: GLYCLAZIDE PREPARATIONS, - MICROBIOLOGICAL STUDIES

Storozhenko S.E.¹, Stepanova E.F.², Larionova I.A.¹, Potkina N.A.¹, Malakhova L.V.¹

¹FGBOU VO «Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of Russia, Krasnoyarsk, e-mail: panisher-13@mail.ru;

²Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - a branch of FGBOU VO Volgograd State Medical University, Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, e-mail: efstepanova@yandex.ru

Type 2 diabetes mellitus is a serious, progressive disease, dangerous for its micro- and macrovascular complications. The issues of treatment of type 2 diabetes are relevant for a huge number of people: high rates of growth in the incidence allow us to talk about a global diabetes epidemic. Therefore, a significant expansion of the range of antidiabetic drugs is a well-reasoned position. The emergence of new drugs as a result led to the search and, of course, a detailed study of the original dosage forms, their development, technology, analysis. One of the worthy representatives of the pharmaceutical market of antidiabetic drugs is gliclazide. This article discusses the innovative dosage forms of gliclazide - transdermal patch and suspension. In the production of drugs, one of the main indicators of quality is microbiological stability. In order to determine microbiological stability, the studied samples were analyzed according to the indicators «Total number of aerobic bacteria, yeast and molds», «Number of bacteria *S. aureus*», «Number of bacteria *P. aeruginosa*», «Number of bacteria *E. Coli*». The features of testing are noted. The article also describes the requirements for the quality of the transdermal patch and suspension for internal use according to the indicator «Microbiological purity» in

accordance with the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV. Ethyl alcohol 95% was introduced into the composition of the patch as a preservative, sodium benzoate and potassium sorbitol in three concentrations were added to the suspension as a preservative: 0.05%; 0.01%; 0.02% by weight of the dosage form. Studies of the developed dosage forms in terms of microbiological purity were carried out in accordance with the State Pharmacopoeia of the XIV edition. The optimal concentration of sodium benzoate preservative was determined - 0.05% by weight of the dosage form.

Keywords: diabetes mellitus type 2, gliclazide, suspension, transdermal patch, microbiological stability.

Сахарный диабет (СД) 2 типа представляет собой тяжелое, прогрессирующее заболевание, опасное своими микро- и макрососудистыми осложнениями. Проблемы терапии СД 2 типа, учитывая темпы роста заболеваемости актуальны для огромного числа людей. На территории Российской Федерации, по данным федерального регистра сахарного диабета, на 31.12.2017 г. на диспансерном учете состояло 4.49 млн человек (3,06% населения РФ) с диагнозом сахарный диабет, из них: 92,1% (4,15 млн) – сахарный диабет 2 типа [1].

Главным симптомом сахарного диабета 2 типа является повышенный уровень глюкозы крови, возникающий по причине сочетания нарушенной секреции инсулина поджелудочной железой, инсулинорезистентности периферических тканей и повышенной секреции глюкагона. Поэтому основной задачей при терапии сахарного диабета 2 типа является контроль содержания глюкозы в крови для предупреждения или замедления развития осложнений, так часто возникающих при данном заболевании. Тем не менее ряд вопросов, связанных с достижением целевого метаболического контроля уровня глюкозы в крови, на сегодняшний день является не решенным.

Рациональная медикаментозная терапии недостаточно проводится у пациентов с неудовлетворительным гликемическим профилем. Низкая комплаентность пациентов возникает вследствие нарушения врачебных рекомендаций, а именно, нарушения режима дозирования и кратности приема сахароснижающих лекарственных препаратов. Многие пациенты, особенно пожилого возраста, отрицательно воспринимают прием нескольких сахароснижающих препаратов либо изменение кратности их приема. Необходимость проведения сахароснижающей терапии на фоне приема лекарственных средств для лечения сопутствующих патологий также приводит к низкой приверженности пациентов к терапии СД 2 типа. Согласно данным исследований контроль гликемии является одним из важных методов уменьшения прогрессирования заболевания и его осложнений [2].

Поэтому значительное расширение ассортимента противодиабетических лекарственных средств - вполне аргументированная позиция. Появление новых лекарственных средств, как следствие, повлекло за собой поиски и, конечно, подробное изучение оригинальных лекарственных форм, их разработку, технологию, анализ.

Одним из достойных представителей фармацевтического рынка антидиабетических

препаратов в настоящее время является гликлазид. Положительных свойств у гликлазида много. Гликлазид снижает уровень глюкозы крови, стимулируя секрецию инсулина β -клетками островков Лангерганса. Стимулирующее влияние гликлазида на секрецию инсулина реализуется через рецепторы к сульфонилмочевине 1 типа (SUR-1) расположенных в β -клетках поджелудочной железы. При этом гликлазид проявляет селективность к SUR-1 рецепторам поджелудочной железы и не воздействует на SUR-2A рецепторы, локализованные в кардиомиоцитах. Благодаря этому гликлазид является препаратом с низким риском развития сердечно-сосудистых осложнений. При продолжительной терапии гликлазидом у большинства пациентов повышается уровень инсулина и секреция С-пептидов после приема пищи. Гликлазид восстанавливает секрецию инсулина в ответ на алиментарное поступление глюкозы, при этом отмечается усиление второй фазы секреции инсулина. Гликлазид выпускается в форме таблеток с модифицированным высвобождением по 60 мг, таким образом, выбора лекарственных форм практически нет, и не все больные могут свободно проглатывать таблетки.

Поэтому расширение ассортимента лекарственных форм для сахароснижающих препаратов является актуальной задачей. Разработка для гликлазида альтернативной лекарственной формы способна расширить выбор и обеспечить удобство применения для данного лекарственного средства [3; 4].

Среди пероральных лекарственных форм в настоящее время набирают популярность суспензии. Суспензия как лекарственная форма характеризуется рядом преимуществ, одним из которых является удобство применения, что особенно актуально для детей и пожилых пациентов [5].

Одним из перспективных способов доставки лекарственных средств в организм человека является трансдермальная доставка лекарственных средств. Трансдермальные терапевтические системы способны осуществлять непрерывное введение через неповрежденный кожный покров лекарственного вещества в системный кровоток с определёнными постоянными показателями скорости и времени. Трансдермальные терапевтические системы относятся к современному поколению лекарственных форм, с контролируемым высвобождением лекарственных веществ из лекарственной формы. Являясь альтернативой пероральным лекарственным формам, трансдермальные терапевтические системы снижают частоту применения, также отмечается удобство использования данной лекарственной формы, что особенно важно для пожилых людей [6].

В процессе разработки, производства и хранения лекарственных средств необходимо обеспечить микробиологическую стабильность лекарственного препарата, поскольку данный показатель влияет на безопасное применение лекарственного средства. С целью

предотвращения микробной контаминации и обеспечения микробиологической стабильности в состав лекарственного препарата вводят консерванты. Добавление этой группы вспомогательных веществ позволяет избежать роста и развития микроорганизмов, тем самым предотвращая возможность возникновения побочных местных осложнений, связанных с активизацией бактериальной и грибковой инфекции, а также не допускает разрушения действующих веществ. Однако антимикробные консерванты не должны использоваться как альтернатива надлежащей производственной практике [7].

Цель исследования

Целью настоящего исследования является изучение микробиологической стабильности и обоснованный выбор консервантов трансдермального пластыря и суспензии гликлазида.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись: трансдермальный пластырь, включающий активный компонент гликлазид, спирт этиловый 95%, выполняющий роль растворителя и консерванта; составы модельных образцов суспензии представлены в таблице 1. В качестве консервантов в состав суспензии вводили натрия бензоат и сорбит калия в трех концентрациях: 0,05% 0,1% и 0,2% от общей массы. Натрия бензоат и сорбит калия являются одними из часто используемых и наиболее доступных консервантов, применяемых с целью повышения микробиологической стабильности лекарственных препаратов и, как следствие, увеличения срока хранения лекарственного препарата.

Таблица 1

Исследуемые составы суспензии гликлазида

Компоненты	Состав						
	1	2	3	4	5	6	7
Гликлазид	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Метилцеллюлоза	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Натрия бензоат	-	0,025	0,05	0,01	-	-	-
Сорбит калия	-	-	-	-	0,025	0,05	0,01
Вода очищенная	до 50,0	до 50,0	до 50,0	до 50,0	до 50,0	до 50,0	до 50,0

Испытание микробиологической стабильности лекарственных форм с гликлазидом проводили в асептических условиях, с использованием стерильного инструмента. Исследование проводили в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи 1.2.4.0002.18. «Микробиологическая чистота» Государственной фармакопеи XIV издания.

Для проведения исследования на микробиологическую чистоту трансдермального

пластыря с гликлазидом было отобрано 10 единиц пластыря. Исследование проводили следующим образом. После снятия защитного слоя пластыря его помещали в колбу вместимостью 1000 мл, содержащую 500 мл стерильного буферного раствора и стеклянные бусы (условное разведение 1:50) – раствор А. Полученную смесь нагревали на водяной бане до $42,5 \pm 2,5$ °С, встряхивая в течение 30 минут. Определение общего числа аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов, *P. aeruginosa* и *S. aureus* проводили методами прямого посева на питательные среды.

Для определения общего числа аэробных микроорганизмов методом глубинного посева, параллельно в 2 чашки Петри диаметром 90 мм вносили по 1 мл раствора А и добавляли 20 мл стерильного полуохлажденного мясопептонного агара (МПА). После застывания МПА полученные посевы инкубировали при 35 °С в течение 5 суток с ежедневным контролем.

Для определения общего числа дрожжевых и плесневых грибов поверхностным методом, параллельно в 2 чашки Петри диаметром 90 мм вносили 20 мл стерильной среды Сабуро и оставляли до полного застывания. Затем 0,5 мл раствора А наносили стерильной пипеткой на среду и равномерно распределяли шпателем по поверхности. Полученные посевы инкубировали при комнатной температуре в течение 5 суток с ежедневным контролем.

Для проведения испытания трансдермального пластыря на отсутствие бактерий *P. aeruginosa* и *S. aureus* 50 мл раствора А фильтровали через фильтр и переносили в 100 мл среды № 8. Полученные посевы инкубировали в течение 24–48 ч. Через 24 и 48 ч осуществляли отсев петлей методом штрих с площадкой на селективные среды: агар с цетилперидиниум-хлоридом (ЦПХ – агар) и желточно-солевой агар (ЖСА), для выделения *P. aeruginosa* и *S. aureus* соответственно, и инкубировали в течение 24 ч при температуре 35 °С.

Для проведения исследования на микробиологическую чистоту суспензии гликлазида было отобрано по 10,0 суспензии каждого состава. Отобранные образцы суспензии помещали в мерную колбу на 100 миллилитров и доводили до метки стерильным буферным раствором (разведение 1:10) – раствор Б.

Для определения общего числа аэробных микроорганизмов методом глубинного посева, параллельно в 2 чашки Петри диаметром 90 мм вносили по 1 мл раствора Б и добавляли 20 мл стерильного полуохлажденного МПА. После застывания МПА полученные посевы инкубировали при 35 °С в течение 5 суток с ежедневным контролем.

Для определения общего числа дрожжевых и плесневых грибов поверхностным методом, параллельно в 2 чашки Петри диаметром 90 мм вносили 20 мл стерильной среды

Сабуро и оставляли до полного застывания. Затем 0,5 мл раствора А наносили стерильной пипеткой на среду и равномерно распределяли шпателем по поверхности. Полученные посевы инкубировали при комнатной температуре в течение 5 суток с ежедневным контролем.

Для проведения качественного определения бактерий *E. Coli*, 10 мл раствора Б переносили в 100 мл среды № 8 (гомогенат А), перемешивали и инкубировали в течение 24 ч при температуре 35 °С. Через 24 ч 1 мл полученной смеси переносили в 100 мл среды № 3 (гомогенат Б) и инкубировали в течение 48 ч при температуре 35 °С. Через 48 ч бактериологической петлей осуществляли посев гомогената Б методом штрих с площадкой на среду Эндо и инкубировали в течение 24 ч при температуре 35 °С [8].

Результаты исследования и их обсуждение

В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIV в трансдермальном пластыре общее число аэробных бактерий не должно превышать 10^2 КОЕ на 1 пластыре (включая клейкую сторону и основу), общее число дрожжевых и плесневых грибов не более 10^1 КОЕ на 1 пластыре (включая клейкую сторону и основу). *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* должны отсутствовать на 1 пластыре (включая клейкую сторону и основу).

По результатам исследования микробиологической чистоты трансдермального пластыря с гликлазидом, с целью определения общего числа аэробных микроорганизмов, а также общего числа дрожжевых и плесневых грибов, в течение 5 суток не выявлено роста в чашках Петри со средами МПА и средами Сабуро. По результатам исследования микробиологической чистоты трансдермального пластыря на отсутствие бактерий *P. aeruginosa* и *S. aureus*, через 24 часа после посева на среды ЦПХ - агар и ЖСА рост микроорганизмов отсутствовал. Микробиологическая стабильность трансдермального пластыря связана с использованием в качестве растворителя спирта этилового, обладающего противомикробными и консервирующими свойствами. Таким образом, можно сделать заключение, что трансдермальный пластырь с гликлазидом соответствует требованиям общей фармакопейной статьи 1.2.4.0002.18. «Микробиологическая чистота» Государственной фармакопеи XIV издания.

В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIV в жидких препаратах для приема внутрь общее число аэробных бактерий не должно превышать 10^2 КОЕ в 1 г (мл) препарата, общее число дрожжевых и плесневых грибов не более 10^1 КОЕ в 1 г (мл) препарата, *E. Coli* должна отсутствовать в 1 г (мл) препарата.

Результаты посевов разведений модельных образцов суспензий гликлазида представлены в таблице 2. По результатам исследования микробиологической чистоты

суспензии на отсутствие бактерий E. Coli, через 24 часа после посева на среду Эндо рост микроорганизмов отсутствовал во всех образцах суспензии.

Таблица 2

Результаты микробиологических исследований суспензий гликлазида

Состав	Общее число аэробных м/о на 5-е сутки	Общее число дрожжевых и плесневых грибов на 5-е сутки
1	более 1000	единичные колонии
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	единичные колонии
6	0	0
7	0	0
Контроль разводящей жидкости		При посеве разводящей жидкости на питательную среду рост микроорганизмов не выявлен
Контроль питательных сред		При инкубации питательных сред без посева в термостате в течение всех исследований - роста на питательных средах не зарегистрировано

Из представленных данных видно, что суспензия гликлазида без добавления консерванта является микробиологически нестабильной. Для увеличения микробиологической стабильности разработанной суспензии необходимо введение консерванта. При введении достаточного количества консерванта микробиологическая стабильность суспензии повышается, о чем свидетельствует отсутствие роста аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов в составах 2, 3, 4, 6, 7.

Заключение

По результатам проведенного исследования можно сделать заключение, что суспензия гликлазида, в составе которой в качестве консерванта используется натрия бензоат в количестве 0,05% от массы, проявляет достаточную микробиологическую стабильность и соответствует требованиям Государственной фармакопеи XIV издания. Разработанный трансдермальный пластырь является микробиологически стабильным и не требует дополнительного введения консерванта.

Список литературы

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А. Сахарный диабет в российской федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г. // Сахарный диабет. 2018. № 3. С. 144-159.
2. Ахмедова Э.А., Дудинская Е.Н., Марданов Б.У., Абдалкина Е.Н., Канорский С.Г. Контроль гликемии при сахарном диабете: обзор международных исследований по кардиологической безопасности сахароснижающих препаратов // Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. 2016. № 11. С. 8-16.
3. Подачина С.В. Гликлазид МВ: контроль диабета и его осложнений. Эффективная фармакотерапия // Эндокринология. Спецвыпуск. «Сахарный диабет». 2017. № 9. С. 8-12.
4. Мкртумян А.М. Диабетон МВ в национальных и международных рекомендациях // Эффективная фармакотерапия. 2018. № 36. С. 40-49.
5. Илькевич Е.В., Степанова Э.Ф., Степанова Н.Н., Глушко А.А. Суспензия пироксикама: выбор вспомогательных веществ, седиментационный анализ // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. 2017. № 2. С. 155-159.
6. Кузнецова Е.Г., Рыжикова В.А., Саломатина Л.А., Севастьянов В.И. Трансдермальный перенос лекарственных веществ и способы его усиления // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2016. № 2. С. 152-162.
7. Колосов Л.В., Гунар О.В. Эффективность антимикробных консервантов некоторых нестерильных лекарственных препаратов для приема внутрь // Химико-фармацевтический журнал. 2015. № 9. С. 47-50.
8. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.: в 4 т. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации (ОФС.1.2.4.0002.18. «Микробиологическая чистота»). [Электронный ресурс]. 2018. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 17.07.2019).