

БАШКИРОВА
Светлана Николаевна

**Создание, исследование капсулированной комплексной
биологически активной добавки к пище, содержащей вита-
мины, микроэлементы и растительные компоненты**

**Специальность 15.00.01 – Технология лекарств
и организация фармацевтического дела**

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Москва, 2005

Диссертационная работа выполнена на базе Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Пятигорской государственной фармацевтической академии

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор Степанова Элеонора Федоровна

Официальные оппоненты:

доктор фармацевтических наук

Гузев Константин Сергеевич

доктор фармацевтических наук

Петров Александр Юрьевич

Ведущая организация:

Курский государственный медицинский университет

Защита состоится «25» ноября 2005 года в « 14 » часов на заседании диссертационного совета Д 212.203.19 при Российском университете дружбы народов по адресу. 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, к. 1

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке при Российском университете дружбы народов по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.

6

Автореферат разослан « 24 » октября 2005 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета,

доктор фармацевтических наук, доцент



И.В. Косова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

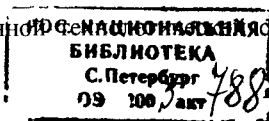
Актуальность темы. В настоящее время интерес к такой группе парафармацевтических средств как биологически активные добавки (БАД) к пище продолжает расти. На фармацевтическом рынке России сегодня присутствует более 5000 зарегистрированных биологически активных добавок, поставляемых более чем 900 фирмами-производителями, среди которых лидерами являются компании из США. Российских компаний значительно меньше, хотя в последние 5-6 лет они стали более целенаправленно продвигаться на рынке и завоевали определенный авторитет. БАД к пище по-прежнему остаются группой разнопрофильной, поэтому подгруппа парафармацевтиков является предметом глубоких исследований для фармацевтической науки, однако нерешенных вопросов как теоретического, так и прикладного характера на сегодняшний день остается немало: это и методологические подходы к соответствующим научным исследованиям, и многочисленные технологические сложности, которые не позволяют пока создавать для БАД собственные производственные схемы, не разработаны алгоритмы обоснования составов БАД композитного характера, которые в настоящее время доминируют над моносоставами. Отсутствует современное аналитическое сопровождение производственного процесса, что не позволяет быть уверенным в безопасности и отсутствии фальсификации в отношении этой продукции. Формы приема отечественных БАД к пище пока недостаточно разработаны: не всегда учитывается такой показатель как комфортность приема.

Что касается выбора направленности действия разрабатываемой БАД к пище, то наиболее актуальной остается сформировавшаяся в последние годы тенденция к разработке иммуномодулирующих составов. Это вызвано, прежде всего, экологическими проблемами, отрицательным влиянием участвовавших природных катастроф и эмоциональных стрессов. Поэтому создание технологически совершенных БАД к пище, обладающих способностью усиливать иммунную систему человеческого организма, является актуальной проблемой.

Целью настоящего исследования является создание оригинальной по составу композитной БАД, включающей витамины, микроэлементы и фитоконпоненты, обладающей профилактической иммуномодулирующей направленностью действия, и её фармако-технологические исследования.

Для достижения данной цели **необходимо решить следующие задачи:**

- предложить и охарактеризовать общую методологическую схему исследования для композитных иммуномодулирующих БАД к пище;
- разработать и обосновать состав предложенной БАД;
- провести исследования технологических свойств композиции, выбрать для нее оптимальную форму приема и предложить наиболее эффективную технологическую схему производства;
- провести качественный анализ основных компонентов предложенной БАД к пище и выполнить их количественное определение с помощью современных методов анализа и осуществить фармакогностическую диагностику растительных компонентов;
- провести совершенствование предложенной схемы за счет



осуществления микрокапсулирования одного из доминирующих составляющих смеси аскорбиновой кислоты.

- выполнить фармакологические исследования с целью подтверждения иммуномодулирующей активности предложенной БАД к пище;
- разработать на предложенную БАД к пище соответствующую нормативную документацию.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ГОУ ВПО Пятигорская государственная фармацевтическая академия (номер государственной регистрации 01.2.001 00455) в рамках тематики проблемы «Фармация» РАМН МЗ и СР РФ, секция №38.

Научная новизна. Разработан и обоснован оригинальный состав БАД к пище с иммуномодулирующей направленностью действия, включающий витамины, микроэлементы и фитоконпоненты – порошок корня солодки голой и порошка травы эхинацеи пурпурной.

Впервые предложена методологическая схема исследований БАД к пище сложного состава с иммуномодулирующей направленностью действия, включающая алгоритмы аналитических и технологических исследований.

Проведены расчеты взаимного влияния всех компонентов состава, основанные на сравнении тонкого электронного строения молекул действующих компонентов – энергетических характеристик граничных молекулярных орбиталей, а также анализ и отбор полученных дескрипторов молекулярной структуры, в результате чего выявлена совместимость компонентов смеси, а также установлены наиболее и наименее стабильные вещества. Изучены технологические свойства композиции и показана необходимость дополнительного микрокапсулирования одного из основных составляющих компонентов композиции для повышения стабильности состава при хранении.

Показана возможность использования ВЭЖХ для определения витаминов, входящих в композицию, и проведен качественный и количественный анализ микроэлементного состава смеси.

Разработана технологическая схема производства предложенной БАД к пище и показаны направления ее дальнейшего совершенствования с помощью микрокапсулирования аскорбиновой кислоты, методом дражирования.

Проведены фармакологические исследования разработанной БАД к пище, установлен ее выраженный дозозависимый эффект.

Практическая значимость результатов исследования. Представленный в работе экспериментальный материал послужил основанием и подтверждением необходимости практического использования предложенной БАД к пище. Проведенные исследования позволили разработать безопасную рациональную технологию производства капсулированной БАД к пище и предложить современное аналитическое сопровождение процесса производства, в том числе с помощью серии качественных реакций и фармакогностической диагностики, позволяющих предотвратить фальсификацию данной композиции.

По результатам исследования составлены ТУ и ТИ на БАД к пище под условным названием «Эхисол»: ТУ №9360-003-00480632-2005 и ТИ №9360-003-00480632-2005. Проведена их технологическая апробация на Тюменском химико-фармацевтическом заводе Акт апробации от 28 марта 2005г.

Основные положения, выносимые на защиту:

- общая методологическая схема исследования композитных иммуномодулирующих БАД к пище и ее характеристика;
- результаты биологического скрининга;
- результаты технологических исследований;
- создание усовершенствованной технологической схемы, включающей этап микрокапсулирования аскорбиновой кислоты;
- результаты аналитических исследований;
- результаты фармакологических исследований.

Апробация и публикация работы. Основные результаты работы доложены на межкафедральной конференции специальных кафедр Российского университета дружбы народов, Пятьдесят девятой и Шестидесятой конференциях по фармации и фармакологии «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Пятигорск, 2004 г., 2005 г.), на Межрегиональной научной конференции молодых ученых и студентов (Анапа, 2005 г.). По теме диссертации опубликовано 8 научных работ.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 139 страницах машинописного текста, содержит 30 таблиц, 30 рисунков. Список литературы включает 171 источников, в том числе 57 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Первым этапом исследований явилась разработка блоковой методологической схемы для доминирующей группы парафармацевтических средств - БАД к пище, где в качестве алгоритмов научных исследований представлены как подготовительные этапы в виде обязательных позиций, таких, как постановка цели исследования и её конкретизация с помощью основных задач, так и новые экспериментальные блоки, посвященные разработке оптимального состава БАД к пище, экспериментально-теоретическому обоснованию выбора этого состава, а также подробному доказательству подлинности предлагаемой композиции с целью исключения возможной фальсификации её составляющих (рис.1).

Реализацию предложенной методологической схемы проводили поэтапно в соответствии с зафиксированными в ней алгоритмами.

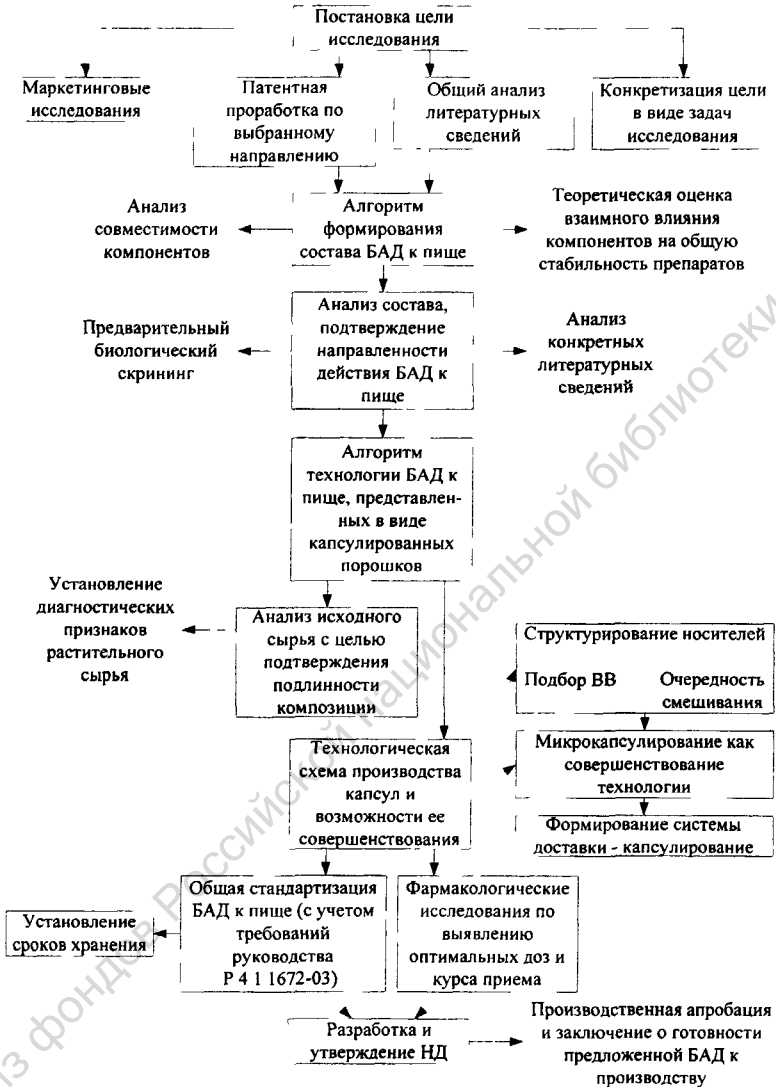


Рис. 1 - Методологическая схема разработки и исследования БАД к пище

Подбор основных компонентов разрабатываемой БАД к пище первоначально осуществляли, основываясь на литературных данных в отношении различных лекарственных средств, способных проявлять корректирующее иммунитет и профилактическое действие. Литературные данные свидетельствовали, что в большинство иммуномодулирующих лекарственных средств входят одни и те же компоненты (рис. 2)

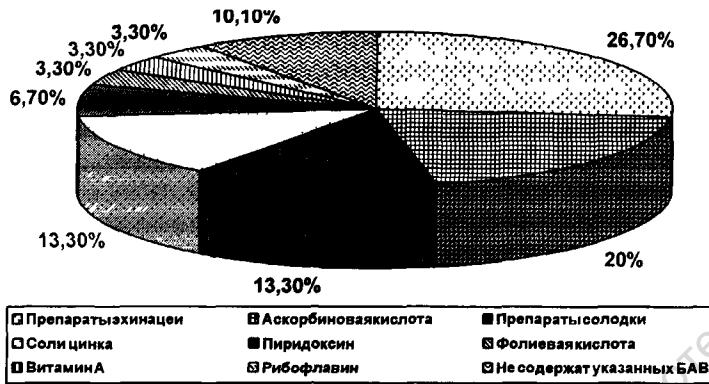


Рис. 2 - Частота использования отдельных БАВ в БАД иммуномодулирующего действия

В качестве основного витаминного компонента чаще всего выступает кислота аскорбиновая. Она входит в состав около 20% БАД к пище иммуномодулирующего действия.

В отношении других, характерных для иммуномодулирующих БАД к пище компонентов, можно заключить: соли цинка содержат примерно 13% проанализированных нами композиций, пиридоксин – более 6,5%, фолиевую кислоту, витамин А, рибофлавин – более 3%. Что касается фитокомпонентов, то среди них доминируют препараты солодки голой – она содержится в составе более чем 13% иммуномодулирующих БАД к пище и эхинацеи – более 26%.

Однако, в ходе анализа существующих составов мы обратили внимание, что они преимущественно представлены витаминно-минеральными и фитоминеральными композициями и отсутствуют составы, сочетающие в себе все наиболее популярные компоненты, перечисленные выше.

Исходя из имеющихся сведений, нами был разработан следующий состав иммуномодулирующей БАД к пище с условным названием «Эхисол»:

Порошка травы эхинацеи пурпурной	50 мг
Порошка корня солодки голой	12,5 мг
Кислоты аскорбиновой	50 мг
Витамина А (ретинола ацетат)	450 МЕ
Пиридоксина гидрохлорида	1 мг
Рибофлавина	450 мкг
Кальция карбоната	100 мг
Кислоты фолиевой	100 мкг
Цинка оксида	500 мкг
Магния оксида	3 мг
Лактозы	200 мг

Далее была проведена оценка совместимости компонентов смеси с использованием прикладных квантово-химических методов моделирования молекулярных структур. Установлено, что абсолютная восстанавливающая сила максималь-

на у рибофлавина и фолиевой кислоты и минимальна у лактозы. Общая реакционная способность, в том числе по отношению к термической и химической деструкции минимальна в отношении лактозы и глицирритиновой кислоты, находится в среднем диапазоне для ароматических кислот эхинацеи и максимальна для витаминов и флавоноидов.

Следующим этапом наших исследований, связанных с обоснованием предложенной композиции, явился биологический скрининг.

Биологическую активность разработанного состава оценивали экспресс-тестом на культуре *Paramecium caudatum*. Применяли метод визуального наблюдения за клеточной культурой простейших из коллекции Санкт-Петербургского Государственного Университета, полученной методом клонирования и выращивания на среде Л.К. Лозина–Лозинского. При естественном визуальном наблюдении за парамециями под микроскопом, воздействие на них различных химических и физических факторов можно наблюдать по изменению двигательных реакций, а также по изменению структуры клеток. Исследования проводили в три этапа.

На первом было оценено возможное биоцидное действие препаратов. Культуру использовали в стационарной фазе роста. Было установлено отсутствие токсичности разработанной композиции.

Целью второго этапа была оценка влияния на интенсивность размножения инфузорий в культуральной среде, т.е. оценивали токсическое воздействие на клетки в субхроническом опыте. Было установлено, что композиция стимулирует размножение парамедий, переводя их из стационарной в лаг-фазу. Причем наиболее выраженное стимулирующее влияние на размножение клеток инфузорий оказывает витаминно-минерально-растительный комплекс.

Обработка клеточных культур мембраноразрушающими ядами на третьем этапе показала, что повышение толерантности клеточной культуры к неблагоприятному воздействию раствора пероксида водорода достоверно значимо оказывает комплексный препарат, который в 2 раза активнее проявил свои свойства по сравнению с растительными компонентами и витаминами, введенными по отдельности.

Таким образом, предложенный нами состав обладает необходимыми протективными свойствами, а также способен обеспечить потенцирующий клеточное размножение эффект, превышающий таковой для витаминных и растительных комплексов.

Далее нами были проведены необходимые технологические исследования с целью выбора оптимального способа получения БАД к пище «Эхисол».

В качестве формы для введения композиции в организм мы избрали твердые желатиновые капсулы. Наш выбор был обусловлен тем, что капсулированные порошкованные составы, как правило, стабильны и хорошо хранятся.

Однако входящие ингредиенты имеют различную природу и находятся в различных количествах. Нами исследованы технологические характеристики, входящих в состав БАД ингредиентов, которые представлены в таблице 1.

Технологические характеристики ингредиентов смеси

№	Наименование ингредиента	Насыпная масса, г/см ³	Сыпучесть, г/сек	Средний размер частиц, мм
1	Порошок травы эхинацеи пурпурной	0,24±0,012	2,5±0,125	0,12
2	Порошок корня солодки голой	0,32±0,016	3,1±0,155	0,15
3	Кислота аскорбиновая	0,65±0,032	9,6±0,48	0,35
4	Пиридоксин	0,55±0,027	4,6±0,23	0,22
5	Рибофлавин	0,44±0,022	3,8±0,19	0,15
6	Фолиевая кислота	0,46±0,023	4,5±0,22	0,28
7	Лактоза	0,8±0,04	9,6±0,48	0,18
8	Кальция карбонат	1,2±0,06	12,6±0,63	0,27
9	Магния оксид	0,21±0,01	3,6±0,18	0,09
10	Цинка оксид	0,94±0,047	7,2±0,36	-

Как следует из анализа данных, приведенных в таблице, все указанные объекты различаются по технологическим свойствам и их обычное смешивание может привести к расслоению и неточности дозирования. Учитывая то, что витамины и минералы входят в состав БАД в весьма малых количествах, неравномерность смешивания может привести к нарушению их дозировок. Возникла необходимость получения массы однородной по гранулометрическому составу и выбора способа предохранения входящих ингредиентов от внешних воздействий.

Так как преобладающими компонентами указанного состава являются кислота аскорбиновая, порошок травы эхинацеи пурпурной, порошок корня солодки голой, карбонат кальция и лактоза, составляющие 98,75% от общей массы, именно они будут оказывать основное влияние на технологические параметры.

Для обеспечения точности дозирования ингредиентов БАД необходимо было обеспечить однородный гранулометрический состав. С этой целью мы использовали метод влажного гранулирования смеси. В качестве гранулирующих агентов мы использовали спиртовые растворы различных высокомолекулярных веществ (ВМВ). Использование грануляции неводными растворителями оправдано с точки зрения обеспечения большей стабильности и микробиологической чистоты инкапсулируемых масс, а также повышения степени высвобождения экстрактивных веществ из растительных порошков. Оценку технологических характеристик полученных гранулированных смесей проводили по их сыпучести, насыпной массе, гранулометрическому составу, прочности гранул. О прочности гранул судили по количеству отсева менее 0,25 мм. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Оценка технологических характеристик гранулятов и эффективности использования различных ВМВ (х, n=6).

№ п./п	Наименование ув-раствора ВМВ	Технологические характеристики					
		Сыпучесть (г/с)	Насыпная масса (г/см ³)	Гранулометрический состав (%)			
				< 0,25	0,25-0,5	0,5-1,0	1,0-2,0
1	Р-р ПВП с/м. 10% спиртовый	8,6	0,91	28,2	24,5	10,1	37,2
2	Р-р коллидона 25 10% спиртовый	10,2	0,87	19,4	17,4	17,6	45,6
3	Р-р коллидона 30 10% спиртовый	12,8	0,82	9,7	10,2	20,0	60,1
4	Р-р плаздона (S 630) 10% спиртовый	11,4	0,84	16,6	16,5	14,8	52,1

Как следует из анализа данных, приведенных в таблице, оптимальными технологическими характеристиками обладали грануляты, полученные с помощью 10% раствора Коллидона 30, который обеспечивал наименьшее количество отсева частиц менее 0,25 мм и наиболее однородный гранулометрический состав. Данные представлены на рисунке 3:

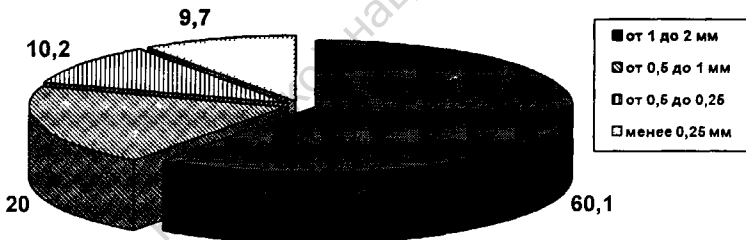


Рис. 3 - Фракционный состав гранулята БАД, полученного на основе Коллидона 30

Полученным гранулятом заполняли капсулы с учётом насыпной массы композиции и дозы на один прием.

Разработанную БАД к пище «Эхисол» подвергали всесторонним аналитическим исследованиям.

В первую очередь было проведено определение диагностических признаков порошка травы эхинацеи пурпурной и корня солодки голой, которые могут помочь предотвратить фальсификацию данной БАД к пище, а также служить основанием для стандартизации предложенной композиции.

Анатомические исследования проводили при помощи микроскопа БИОЛАМ. Особенности анатомического строения исследуемых растительных объектов фиксировали при помощи фото-камеры со специальной фотонасадкой.

При изучении особенностей анатомического строения исследуемых растительных объектов нами были выявлены фрагменты сосудов и длинные одноклеточные волоски, характерные для травы эхинацеи пурпурной. Корень солодки голой можно диагностировать по одревесневшим элементам.

Полученные экспериментальные данные позволяют достоверно проводить диагностику смеси травы эхинацеи пурпурной и корня солодки голой в измельченном в порошок виде.

Далее был проведен качественный анализ смеси: наиболее специфичные качественные реакции выполняли в отношении каждого компонента смеси. В частности, изучалась возможность использования метода ТСХ с применением ГСО глицирама для стандартизации БАД «Эхисол».

По значению R_f были обнаружены: ликуразид – один из доминирующих флавоноидов солодки голой в виде желтого (или желтовато-оранжевого пятна), глицирризиновая кислота – в виде фиолетового флюоресцирующего (при УФ-свете 254 нм) пятна на уровне ГСО глицирама.

Идентификацию основных оксикоричных кислот эхинацеи пурпурной проводили методом бумажной хроматографии в системе н-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (в соотношении 8:2:2). По окраске пятен в УФ-свете, при воздействии паров аммиака и по значениям R_f были идентифицированы хлорогеновая, феруловая и кофейная кислоты.

На пиридоксина гидрохлорид, ретинола ацетат, рибофлавин, аскорбиновую кислоту, сапонины солодки голой, карбонат-анион, ионы магния, цинка и кальция были проведены качественные реакции в соответствии с действующей НД.

Для определения количественного содержания аскорбиновой кислоты и других компонентов витаминной части предложенной нами композиции «Эхисол» мы использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием.

Количественное определение микроэлементов, входящих в композицию «Эхисол», осуществляли на приборе ДФС-8-1 методом испарения. Было установлено, что микроэлементный состав смеси разнообразен: помимо введенных в состав композиции магния, цинка, кальция, благодаря присутствию в ней растительных объектов (порошков травы эхинацеи пурпурной и корня солодки голой), в составе смеси были обнаружены такие микроэлементы как марганец, железо и другие. И в то же время, состав не содержал каких-либо токсичных для человека микроэлементов в опасных количествах.

Таким образом, в отношении норм качества разработанная БАД к пище «Эхисол» соответствует регламентированным требованиям действующих Сан-ПиН 2.3.2.1290-03.

С целью установления сроков годности определение стабильности капсул «Эхисол» проводили в естественных условиях в течение двух лет.

Дальнейшие наши исследования касались технологии совершенствования разработанной БАД к пище. Была исследована возможность микрокапсулирования одного из основных компонентов композиции – кислоты аскорбиновой – с целью дополнительной защиты от контакта с прочими ингредиентами, а также для обеспечения большей пролонгированности действия.

Для выбора оптимального способа получения микрокапсул с аскорбиновой кислотой нами были воспроизведены физико-химические методы: метод диспергирования в системе масло – концентрированный раствор желатина и метод получения коацерватов желатина при воздействии 20% раствора натрия сульфата. Однако оба эти способа микрокапсулирования не обеспечивали желаемых результатов, так как не обеспечивали должной сыпучести.

Поэтому нами был апробирован физический метод получения микрокапсул кислоты аскорбиновой – дражирование. В качестве оболочки для микрокапсул мы испытывали ВМВ, используемые для пролонгирования действия лекарственных веществ: Композитный полимерный носитель (КПН-1), представляющий собой интерполимерный комплекс полиметакриловой кислоты и полиэтиленгликоля; Колликут (Kollicoat MAE 100P) – полимерный комплекс этакриловой кислоты и метакрилата; Коллидон 90 – поливинилпирролидон с молекулярной массой 90 тыс.

Данные ВМВ в виде спиртовых растворов напыляли под давлением на порошок кислоты аскорбиновой из форсунки в количестве, составляющем 50% от массы взятой аскорбиновой кислоты. Указанное количество пленкообразующего раствора было взято с целью сравнительного изучения пролонгирующего и защитного действия полимеров. По результатам высвобождения кислоты аскорбиновой из полученных микрокапсул построили график. Данные представлены на рисунке 4.

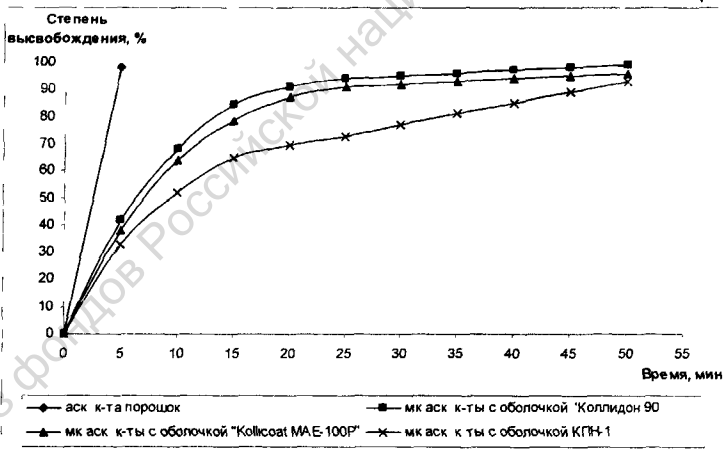


Рис. 4 – Динамика высвобождения кислоты аскорбиновой из микрокапсул с оболочками из различных ВМВ

На основании данных, приведенных на рисунке, можно сделать вывод о том, что наиболее приемлемым пленкообразователем для получения микрокапсул кислоты аскорбиновой является КПН-1, т.к. он обеспечивает наибольший пролонгирующий эффект.

Далее мы исследовали зависимость пролонгирующего эффекта от количества нанесенного пленкообразователя (в % в пересчете на сухое вещество) Результаты приведены на рисунке 5.

Как видно из рисунка, требуемое время высвобождения кислоты аскорбиновой достигалось напылением 7,5% спиртового раствора КПН-1.

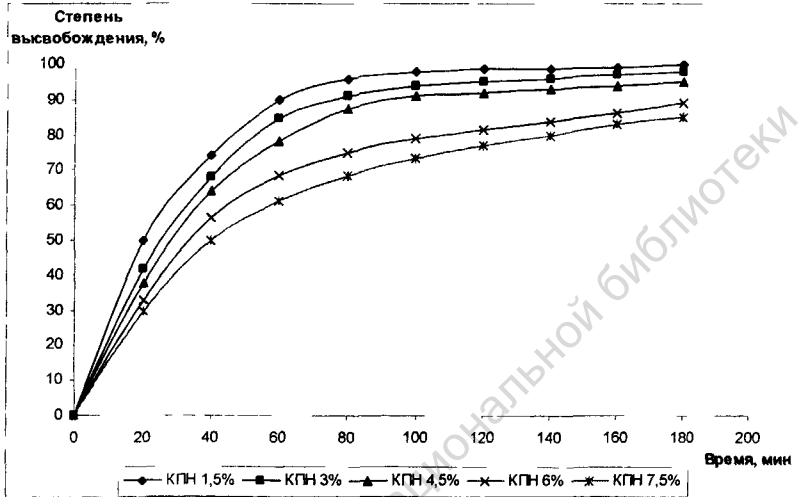


Рис. 5 – Динамика высвобождения кислоты аскорбиновой из микрокапсул в зависимости от количества КПН-1

Количественное определение кислоты аскорбиновой в микрокапсулах в смеси проводили с помощью ВЭЖХ.

Относительное стандартное отклонение при использовании метода ВЭЖХ - не более 2 %. Коэффициент асимметрии пика не более 1,5. Результаты хроматографирования представлены на рисунке 6.

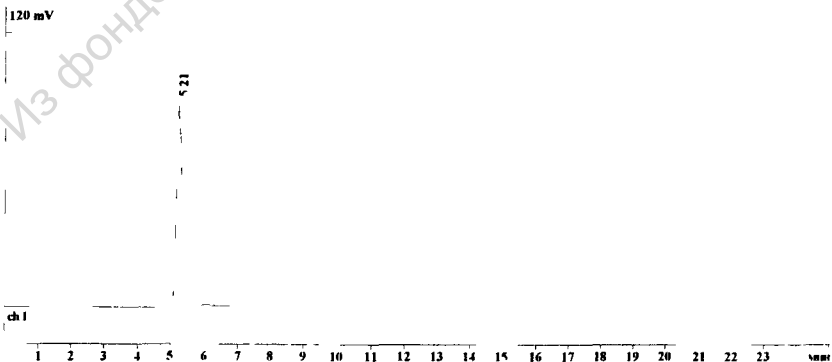


Рис. 6 - Хроматограмма образца аскорбиновой кислоты

Таким образом, было установлено, что содержание кислоты аскорбиновой в микрокапсулированном виде составляет около 10% от всей массы капсулированной смеси, а включение аскорбиновой кислоты в микрокапсулы осуществляется полно, что подтверждают результаты ВЭЖХ – количественное содержание аскорбиновой кислоты в микрокапсулах составляло 92,5%; кроме того по очертаниям пика на хроматограмме и его соответствии стандартному образцу можно утверждать, что в процессе микрокапсулирования деструкции аскорбиновой кислоты не происходит.

Для подтверждения правильности выбора способа дражирования мы сравнивали значения наиболее важных для микрокапсул технологических показателей – размера микрокапсул и сыпучести. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3

Сравнительная характеристика некоторых технологических свойств микрокапсул в зависимости от способа получения

Способ	Размер микрокапсул, мкм	Сыпучесть, г/сек
Способ 1 - диспергирование в системе жидкость-жидкость	100-300	9,8
Способ 2 - коацервация	500-800	5,2
Способ 3 – дражирование	80-200	14,8

Таким образом следует, что и в отношении сыпучести, и по размерам микрокапсул, наиболее предпочтительным является способ дражирования.

В итоге нами была модифицирована технологическая схема получения БАД к пище «Эхисол» с учетом стадии микрокапсулирования аскорбиновой кислоты.

Схема несложна и вполне реализуема в условиях среднemasштабных производств.

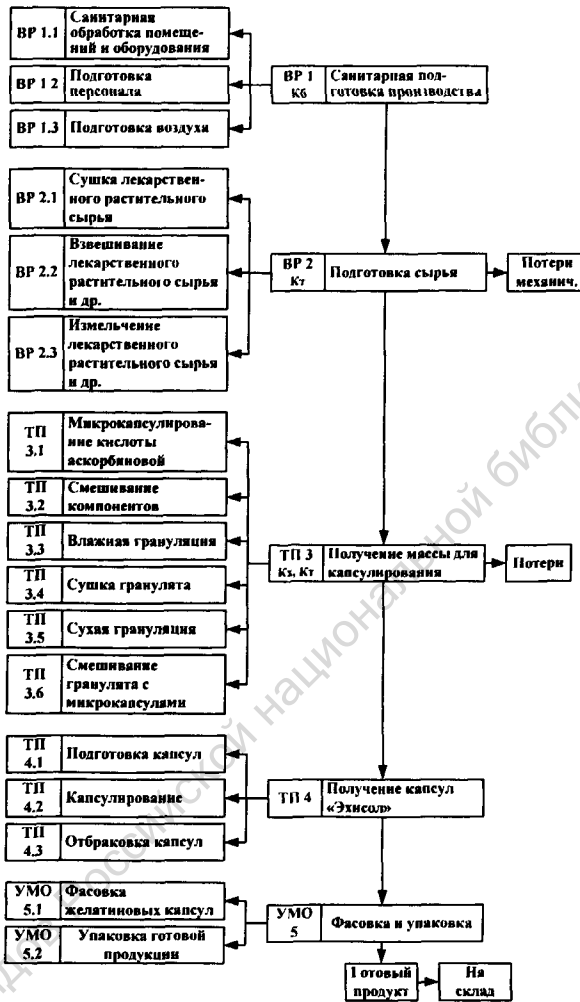


Рис.7 - Технологическая схема получения БАД «Эхисол»

С целью более глубокого изучения разработанной композиции нами были проведены фармакологические исследования.

Острую токсичность данного состава БАД к пище изучали на белых беспородных мышах и белых беспородных крысах. За животными наблюдали 2 недели «Эхисол» вводили перорально. Результаты проведенных исследований позволили сделать вывод о том, что композиция «Эхисол» при пероральном введении согласно табуляции классов токсичности, относится к 3 классу опасности – веществам малоопасным.

Таким образом, для специфической активности определились дозы 50, 100 и 500 мг/кг.

Эксперименты по изучению иммуномодулирующей активности были выполнены на 144 беспородных мышах-альбиносах (по 12 особей в группе):

Все мыши находились в стандартных условиях вивария. БАД вводилась мышам опытных групп перорально ежедневно в течение 14 дней 1 раз в день в дозах 50, 100 и 500 мг/кг веса животных. Оценка антителогенеза осуществляли на 5-е сутки после иммунизации мышей эритроцитами барана по количеству антителообразующих клеток (IgM-АОК) в селезенках опытных и контрольных мышей. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4

Изменение количества IgM-АОК при пероральном введении лабораторным мышам исследуемой БАД ($M \pm m, p$)

Группа	IgM-АОК _{отн} (на селезенку)	IgM-АОК _{абс} (на миллион клеток селезенки)
1. Фоновый контроль	12778,00±3125,00	238,00±55,10
2. БАД 50мг/кг	14578,20±2178,27	300,40±57,90
3. БАД 100мг/кг	17986,00±3269,10	320,30±65,00* p<0,02
4. БАД 500 мг/кг	18988,10±2964,30 p<0,02	468,20±59,00*,\$ p<0,01

Примечание: *-достоверно относительно контрольных параметров; \$-достоверно относительно БАД в дозе 50мг/кг; #-достоверно относительно БАД в дозе 100 мг/кг.

Оценку клеточного иммунитета мышей проводили с помощью теста ГЗТ на 4-е сутки после иммунизации мышей ЭБ и введения разрешающей дозы антигена в подушечку задней лапы сенсибилизированной мыши. Учет реакции проводили путем вычисления величины сформировавшегося отека лапы на специальном устройстве. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5

Изменение реакции ГЗТ при пероральном введении мышам исследуемой БАД ($M \pm M, p$)

Группа	Величина отека лапы мышей при введении разрешающей дозы Антигена (мм)
1. Фоновый контроль	0,22±0,02
2. БАД 50мг/кг	0,23±0,01
3. БАД 100мг/кг	0,26±0,02* p<0,02
4. БАД 500 мг/кг	0,31±0,01*,\$ p<0,01

Примечание: *-достоверно относительно контрольных параметров; \$-достоверно относительно БАД в дозе 100мг/кг.

В результате было установлено увеличение реакции ГЗТ на 5% при дозе БАД 50 мг/кг, на 18% - при дозе БАД 100 мг/кг и на 40% - при максимальной дозе БАД (500 мг/кг).

Кроме того, проводили изучение фагоцитарной активности на экспериментальной модели циклофосфан-индуцированной иммунодепрессии фагоцитарной и микробицидной функции НГ мышей, с помощью которой была осуществлена попытка оценить иммуномодулирующие свойства исследуемой БАД, а также исследовали дозозависимый эффект БАД «Эхисол».

Исследование уровня функциональной активности системы НГ при пероральном введении БАД в исследуемых дозах позволило выявить достоверную активизирующую способность биодобавки. При этом показано, что доза 50 мг/кг БАД выявляет лишь тенденцию к повышению исследуемых показателей. В то же время максимальная доза БАД (500 мг/кг) стимулирует как количество активно-фагоцитирующих клеток, так и процессы поглощения и переваривания бактерий.

Таким образом, исследуемая композиция – БАД к пище «Эхисол» - обладает выраженным дозозависимым иммуностропным эффектом в отношении клеточного, гуморального ответа и функционального состояния.

Выводы:

1. Разработана БАД к пище сложного состава, содержащая фитокомпоненты – измельченную траву эхинацеи пурпурной и порошок корня солодки голой, витаминный комплекс с преобладанием кислоты аскорбиновой и микроэлементы.
2. Разработана и обоснована методологическая блок-схема исследования для предложенной БАД к пище сложного состава иммуномодулирующей направленности действия, включающая алгоритмы по оптимизации технологии и аналитическому сопровождению процесса производства.
3. Определены совместимость компонентов и стабильность композиции с помощью прогнозирующих квантово-химических расчетов физико-химических свойств основных биологически активных веществ композиции: установлены наиболее стабильные – лактоза и глицирритиновая кислота, и наименее стабильные – витамин А и кемпферол.
4. Проведен биологический скрининг состава на модели *Paramecium caudatum* и установлено, что все компоненты смеси стимулируют размножение парамеций и проявляют протективные свойства, а композиция проявляет более выраженный эффект.
5. Определены базовые технологические характеристики компонентов смеси – насыпная масса (от 0,24 до 1,2 г/см³), сыпучесть (от 2,5 до 12,6 г/см), средний размер частиц (от 0,09 до 12,6 г/см) и показана необходимость грануляции композиции. Составлена оптимальная технологическая схема производства БАД к пище.
6. Предложены способы качественной и количественной оценки разработанной композиции: с помощью комплекса характерных качественных реакций, ТСХ

- для идентификации БАВ эхинацеи пурпурной и солодки голой; ВЭЖХ – для анализа витаминных компонентов и атомно-адсорбционной спектрометрии для идентификации микроэлементных компонентов смеси Установлено соответствие качественных и количественных показателей их требуемому содержанию в прописи, а также подтверждён разнообразный микроэлементный состав.
7. Показана возможность совершенствования технологии разработанной БАД с помощью микрокапсулирования аскорбиновой кислоты методом дражирования с использованием в качестве пленкообразователя КПП-1 в концентрации 7,5%.
 8. Проведены фармакологические исследования предложенной БАД к пище и установлено, что она обладает выраженным дозозависимым иммуностимулирующим эффектом в отношении клеточного, гуморального ответа и функционального состояния нейтрофильных гранулоцитов лабораторных мышей.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Башкирова, С.Н. Биофармацевтические исследования БАД к пище иммуномодулирующего действия с фитокомпонентами / С.Н. Башкирова // XII итоговая (межвузовская) науч. конф. молодых ученых и студентов г. Ставрополь 2004 г. - С 594-595.
2. Башкирова, С.Н. Разработка состава и биофармацевтические исследования биологически активной добавки иммуномодулирующего действия / С.Н. Башкирова // Актуальные проблемы современной медицины: Тез. 58 науч.-практич. конф. студентов и молодых ученых Национального медицинского университета имени А.А.Богомольца г. Киев 28-29 окт. 2003 г. – С. 19.
3. Башкирова, С.Н. Разработка состава и технологии комбинированной БАД к пище, обладающей иммуномодулирующей направленностью действия / С.Н. Башкирова // Мат. науч.-практич. конф. с международным участием и школы-семинара для молодых ученых Астраханской государственной медицинской академии «Современные достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины» г. Астрахань – Москва 2004 г. С 164-167
4. Степанова, Э.Ф. Разработка технологии и исследование капсулированной фитокомпозиции иммуномодулирующего действия / Э.Ф. Степанова, С.Н. Башкирова // Регион. конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров (59; 2004; Пятигорск): Материалы... - Пятигорск, 2004. – С 74.
5. Степанова, Э.Ф. Разработка и фармакологические исследования БАД к пище на основе растительных и витаминно-минеральных комплексов. Оценка ее иммуностимулирующей активности / Э.Ф. Степанова, С.Н. Башкирова, Р.А. Ханферян // Медлайн – 2005. - №1 – С. 45.
6. Башкирова, С.Н. Рациональное питание пищевые добавки и биостимуляторы / С.Н. Башкирова, Э.Ф.Степанова, Ф.К. Серебряная, А.В. Пантюхин // – Москва. – 2004. - №3. – С. 58-59.
7. Башкирова, С.Н. Разработка состава и технологии комбинированной БАД к пище, обладающей иммуномодулирующим действием / Башкирова С.Н. //

Регион. конф по фармации, фармакологии и подготовке кадров (60; 2005; Пятигорск): Материалы... - Пятигорск, 2005. – С 79-80.

8. Башкирова, С.Н Фармакологическое изучение композиции на основе витаминов, микроэлементов и фитоконпонентов с иммуномодулирующей направленностью действия / С.Н. Башкирова, Э.Ф. Степанова, Р.А. Ханферян // Вестник новых медицинских технологий – 2005. – Т.ХII, №3-4. – С. 92-94.

Башкирова Светлана Николаевна (Россия)

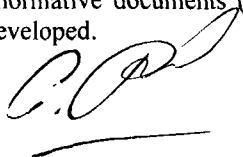
Создание, исследование капсулированной комплексной биологически активной добавки к пище, содержащей витамины, микроэлементы и растительные компоненты

Разработана БАД к пище сложного состава, включающая фитоконпоненты. Показана возможность доказательства совместимости компонентов смеси на основании прогнозирующих теоретических расчетов молекулярных дескрипторов. Проведен биологический скрининг. Выполнены технологические исследования фармакогностический анализ фитоконпонентов смеси. Предложены способы качественного и количественного анализа разработанной БАД. Показана возможность совершенствования технологии разработанной композиции. Доказано, что разработанная БАД к пище обладает дозозависимым иммуностропным эффектом. На предложенную БАД к пище разработаны необходимые нормативные документы (ТУ и ТИ).

Bashkirova Svetlana Nikolaevna (Russia)

Creation, research of incapsulated complex biologically active additive to the nutrition containing vitamins, trace substances and vegetative components

Biologically active additive to the nutrition, the complex composition, including fitocomponents, was developed. The opportunity of the proof of compatibility of formulation constituents was shown on the basis of forecasting theoretical calculations of molecular descriptors. Biological screening was carried out. Technological researches and farmacognostic analysis of fitocomponents of admixtures were executed. Ways quality and quantitative analysis of developed biologically active additive were offered. The opportunity of perfection of technology of the developed composition was shown. It was proved, that developed biologically active additive to the nutrition had dose-dependent immunotropic effect. On offered biologically active additive to the nutrition necessary normative documents (technical specifications and technological instructions) were developed.



№ 19690

РНБ Русский фонд

2006-4

20856

Подписано в печать 17.10.2005.

Формат бумаги 60×84 ¹/₁₆ Бумага офсетная Печать офсетная

Тираж 100 экз Заказ 235.

Издательство Пятигорского государственного лингвистического университета
357532, г. Пятигорск, пр. Калинина, 9

Отпечатано в центре информационных и образовательных технологий ПГЛУ