

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности, а именно, к производству витаминных препаратов в таблетированной форме. Получаемый согласно изобретению препарат может быть использован для профилактики и лечения Д-гипевитаминоза и рахита у детей и разных форм костных патологий.

Известен лабораторный способ получения комплекса на основе жирорастворимых витаминов и белка, где казеин растворяют в щелочи, а витамины (например Д<sub>2</sub>, Д<sub>3</sub>, А, Е) - в органическом растворителе, в короткий предварительно вводят ледяную уксусную кислоту. После смешивания полученных растворов выпавший осадок, представляющий собой витамин-белковый комплекс, центрифугируют, сушат, измельчают. Полученные комплексы содержат до 2 % витаминов Д<sub>2</sub> и Д<sub>3</sub>, до 6% витамина А и до 8% витамина Е [1].

Известен также производственный способ получения витамин Д-белкового препарата "Видеин" для сельского хозяйства, где растворенный в щелочном растворе казеин смешивают со спиртовым концентратом витамина Д<sub>3</sub> [2]. Полученный комплекс осаждают уксусной кислотой, фильтруют, измельчают и сушат. Выход витамина Д<sub>3</sub> составляет 87,8%, активность 200000 МЕ на 1 г сохраняется в течение 0,5 года. Однако, известный способ обладает рядом недостатков: в качестве активного начала используют спиртовый концентрат витамина Д<sub>3</sub>, который содержит около 12% примесей в виде промежуточных продуктов получения витамина Д<sub>3</sub>, например: 7-дегидрохолестерин, люмистерин и ряд продуктов окисления. Получаемый препарат может использоваться только в качестве кормовой добавки для сельского хозяйства.

В основу изобретения поставлена задача усовершенствовать производственный способ получения витамин Д<sub>3</sub>-белкового препарата "Видеин" путем улучшения качества очистки препарата, что обеспечит повышение активности и стабильности препарата и, как следствие, улучшение терапевтического действия при лечении рахита.

Эта задача решена в способе получения витамин Д<sub>3</sub>-белкового препарата, включающем растворение казеина в щелочи, а витамин Д<sub>3</sub>-содержащего препарата в спирте, смешивание обоих растворов, осаждение витамин Д<sub>3</sub>-белкового комплекса уксусной кислотой с последующим центрифугированием, гранулированием и сушкой, где, согласно изобретению:

- казеин предварительно очищают путем растворения в щелочи, осаждения уксусной кислотой, грануляции и сушки;

- в качестве витамин Д<sub>3</sub>-содержащего препарата используют видехол, который смешивают с витамином Е в соотношении 1:1, растворяют в спирте;

- и дополнительно введена операция получения готовой лекарственной формы:

- после сушки витамин Д<sub>3</sub>-белковый комплекс смешивают с сахарным гранулятом и стеариново-кислым кальцием в соотношении соответственно (5-2):(18,6-22,0):0,24 и полученную массу таблетуют. При этом сахарный гранулят получают путем увлажнения сахара поливинилпирролидоном в соотношении (18,6-22,0):0,11.

Предложенная технологическая схема условия и режимы операций позволяют получить высокоочищенный препарат для применения в медицине.

Выход витамина Д<sub>3</sub> - 98,6-99,0%. В одной таблетке полученного препарата (20 или 50 мг субстанции) содержится 2 или 5 тыс. МЕ витамина Д<sub>3</sub> (из расчета 100 тыс. МЕ на 1 г). Препарат сохраняет 100% активность в течение 2,5 лет и 95-90% активность в течение 3-4 лет.

Исследование биологической активности нового препарата показывает существенные преимущества по сравнению с известными препаратами витамина Д<sub>3</sub> в спирте и масле, а именно высокий терапевтический эффект при лечении рахита.

Способ иллюстрируется примерами конкретного выполнения.

Общая схема способа включает три основных этапа:

- предварительная очистка казеина;

- получение витамин Д<sub>3</sub>-белкового комплекса;

- получение таблетированной формы препарата "Видеин".

Конкретизация качественного и количественного состава для поэтапного осуществления способа показана в таблице 1 в примерах 1-6.

I. Предварительная очистка казеина.

Реактор с мешалкой и нагревателем заполняют дистиллированной водой при 40°C и добавляют гидроокись натрия до конечной концентрации  $0,2 \pm 0,05\%$ . затем вводят казеин до концентрации 3-3,5%, перемешивают до полного растворения в течение 20-30 мин. при t 40°C. Фильтруют через два слоя хлопчатобумажной ткани. Осаждают казеин в реакторе при работающей мешалке в течение 1-2 мин. ледяной уксусной кислотой до достижения pH 4,5-4,6. После отстаивания в течение 10 мин. осадок фильтруют, промывают 2-3 раза дистиллированной водой. Жидкость снова центрифугируют, полученный осадок пропускают через сито 1,0-2,0 мм и сушат в вакуум-сушильном шкафу при температуре  $45 \pm 1^\circ\text{C}$  в течение 4 часов.

II. Получение витамин Д<sub>3</sub>-белкового комплекса.

В реакторе очищенный казеин растворяют в гидроокиси натрия до конечной концентрации 3-3,5%. Выход казеина составляет  $98 \pm 2\%$ .

Фильтруют через два слоя хлопчатобумажной ткани. Видехол берут из расчета 0,0025 кг витамина Д<sub>3</sub> на 1 кг казеина.

Альфа-токоферол ацетат (витамин Е) берут в равном количестве - 0,0025 кг. В мернике со спиртом растворяют соответствующие навески витаминных препаратов и смешивают с уксусной кислотой. Приготовленную витаминную смесь вводят тонкой струей в реактор и перемешивают с очищенным казеином в течение 1-2 мин при температуре не выше 40°C. Смесь отстаивают, фильтруют. Осадок промывают дистиллированной водой, центрифугируют для обезвоживания полученного витамин Д<sub>3</sub>-белкового комплекса. Комплекс гранулируют через сито с диаметром отверстий 1-2 мм и сушат при температуре не выше 45°C при перемешивании.

Высушенный препарат измельчают, просеивают через сито с диаметром отверстий 0,3 мм.

III. Полученный таблетированной формы препарата "Видеин".

Сахарный гранулят получают путем смешивания измельченного сахара с 10% поливинилпирролидоном, просеивают через сито (ячейки диаметром 1 мм), просушивают на воздухе до остаточной влажности 0,15%. Сухой гранулят снова просеивают через это сито.

В смеситель загружают сахарный гранулят (диаметр частиц 1 мм), витамин Д<sub>3</sub>-белковый комплекс, кальция стеарат и перемешивают до получения однородной массы в течение 15-20 мин.

Таблетирование осуществляют на роторном таблеточном машинопрессе РТМ-12. Получаемые таблетки имеют плоскоцилиндрическую форму с диаметром  $8 \pm 0,2$  мм и средней массой  $0,24 \pm 0,01$  г. Готовые таблетки препарата "Видеин" расфасовывают в контурные ячейковые упаковки по 10 шт.

Активность препарата по витамину Д<sub>3</sub> 2000 МЕ (субстанция весом 20 мг) или 5000 МЕ (субстанция весом 50 мг).

Выход витамина Д<sub>3</sub> -  $98,6 \pm 0,2$  %.

Пример 7. Биологическую активность препарата "Видеин" изучают на крысах-отъемышах массой 30-40 г которых разделяют на 5 групп по 5 животных и содержат в течение 30 дней на витамин Д-дефицитной диете. Отрицательным контролем (I группа) служит группа животных, которая получает только витамин Д-дефицитную диету (рахит); II группа животных получает 10 МЕ витамина Д<sub>3</sub> в масле; III группа получает 10 МЕ витамина Д<sub>2</sub> в спирте. Животные IV и V групп получают препарат "Видеин" в дозах 10 МЕ и 5 МЕ витамина Д<sub>3</sub> соответственно. Препараты витамина Д вводят перорально с помощью зонда.

Учитывая, что биологическая и лечебная эффективность препаратов группы витамина Д связана с наличием в организме их биологически активных метаболитов: 25-оксихолекальциферол (25-ОНД), 24,28-диоксихолекальциферол (24,25-ОНД), 1,25-диоксихолекальциферол (1,25-(ОН)<sub>2</sub>Д), во всех исследуемых группах в сыворотке крови определяют содержание указанных метаболитов витамина Д, а также уровень минеральных компонентов и активность щелочной фосфатазы. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Сопоставление данных показывает, что высокий уровень содержания активных метаболитов витамина Д в сыворотке крови наблюдается у животных, получавших новый препарат "Видеин". Эти данные коррелируют с уровнем минеральных компонентов в сыворотке крови этих животных. Полученные результаты свидетельствуют, что "Видеин" обладает высокой биологической активностью, превышающей активность коммерческого препарата витамина Д<sub>2</sub> в спирте, витамина Д<sub>3</sub> в масле, что является следствием лучшего транспорта данной формы витамина через желудочно-кишечный тракт и уменьшения степени его окисления в организме. При этом показатели в V группе животных, получавших 1/2 дозы ви-деина, сопоставимы с показателями II и III групп. Следовательно, благодаря высокой биологической активности нового препарата расчетные дозы можно уменьшить вдвое.

Анализ доклинических испытаний показал, что данная форма препарата обеспечивает точность дозирования витамина Д, что в свете последних данных о его физиологической роли в организме и дозозависимости этих процессов очень существенно, а именно: передозирование вызывает явления Д-гипервитаминоза (гиперкальциемия), нарушение синтеза белков, липидов, так как витамин Д относится к группе прогормонов.

Кроме того, таблетированная форма обеспечивает возможность применения препарата при желудочно-кишечных заболеваниях и исключает вредное воздействие растворителей витамина Д (спирта и масла растительного) на организм новорожденных детей.

Результаты клинических испытаний применения таблетированного препарата "Видеин" при лечении рахита и рахитоподобных заболеваний у детей, Д-гиповитаминоза у беременных женщин и ряда заболеваний костной системы свидетельствуют о высокой лечебной эффективности препарата, которая выражается в сокращении сроков выздоровления, полной нормализации патологических изменений.

Т а б л и ц а 1

Конкретизация количественного и качественного составов ингредиентов для поэтапного осуществления способа

Наименование ингредиентов	Масса, кг	Масса, кг	Масса, кг	Масса, кг	Масса, кг	Масса, кг
	Пример 1	Пример 2	Пример 3	Пример 4	Пример 5	Пример 6
<b>Этап I. Предварительная очистка казеина</b>						
Казеин	0,120	0,300	0,1287	3,2175	0,1300	3,2500
Гидроокись натрия	0,008	0,200	0,0090	0,2250	0,0100	0,2500
Кислота уксусная	0,015	0,375	0,0158	0,3950	0,0160	0,4000
Вода дистиллированная	4,000	100,000	4,000	100,000	4,000	100,000
<b>Этап II. Получение витамин Д<sub>3</sub>-белкового комплекса</b>						
Казеин (после этапа I)	0,10000	3,0000	0,10300	3,0900	0,10500	3,15000
Гидроокись натрия	0,00600	0,01800	0,00610	0,1830	0,0065	0,1950
Вода дистиллированная	3,00000	90,0000	3,000	90,000	3,000	90,00
Видекол (ФС 42-20-5383)	0,00045	0,0135	0,0005	0,00150	0,00055	0,0165
Альфа-токоферол ацетат	0,00045	0,0135	0,0005	0,00150	0,00055	0,0165
Спирт этиловый	0,03000	2,400	0,3500	2,55000	0,0900	2,7000
Кислота уксусная	0,12000	0,3600	0,1270	3,81000	0,1300	0,3900
<b>Этап III. Получение таблетированной формы препарата</b>						
Сахар	1,8650	186,000	1,9210	192,1000	2,1650	2,200
Поливинилпирролидон	0,0110	1,100	0,0113	1,1300	0,0111	0,0110
Витамин Д <sub>3</sub> -белковый комплекс	0,5000	50,000	0,5150	51,5000	0,2000	0,200
Кальций стеариново-кислый	0,0240	2,400	0,0247	2,4700	0,0240	0,0240

Т а б л и ц а 2

Содержание неорганических компонентов и активных метаболитов витамина Д в сыворотке крови крыс, получавших различные препараты витамина Д;  $M \pm m$ ;  $n = 25$

Группы животных	Обследуемые группы	Щелочная фосфатаза Е/л	Кальций, ммоль/л	Фосфор неорг., ммоль/л	25-ОНД, нг/мл	24,25-(ОН) <sub>2</sub> Д, нг/мл	1,25-(ОН) <sub>2</sub> Д, нг/мл
I	Рахит	480 ± 8	1,82 ± 0,06	1,27 ± 0,02	0,86 ± 0,01	1,03 ± 0,02	13,17 ± 1,00
II	Рахит ± 10МЕ						
	Дз в масле	318 ± 9	2,69 ± 0,06	1,57 ± 0,08	5,80 ± 0,20	14,20 ± 0,30	39,80 ± 0,92
III	Рахит + 10МЕ						
	Дз в спирте	325 ± 6	2,22 ± 0,08	1,43 ± 0,02	4,85 ± 0,20	9,70 ± 0,60	25,0 ± 1,3
IV	Рахит + 10МЕ						
	Дз (видеин)	301 ± 9	2,80 ± 0,04	1,75 ± 0,05	7,80 ± 0,15	15,30 ± 0,20	77,7 ± 7,0
V	Рахит + 5,0МЕ						
	Дз (видеин)	324 ± 8	2,65 ± 0,05	1,50 ± 0,01	3,14 ± 0,04	13,80 ± 0,40	42,54 ± 4,20