

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **044150**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2023.07.26**

(21) Номер заявки  
**202292855**

(22) Дата подачи заявки  
**2022.10.21**

(51) Int. Cl. **A61K 31/593** (2006.01)  
**A61K 9/107** (2006.01)  
**A61K 47/40** (2006.01)  
**A61P 3/02** (2006.01)

---

(54) **ВОДНЫЙ РАСТВОР КЛАТРАТА ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛА С  $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ И СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ**

---

(43) **2023.07.25**

(96) **2022000095 (RU) 2022.10.21**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ  
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
"БИОХИМ" (RU)**

(72) Изобретатель:  
**Чирак Евгений Леонидович, Чирак  
Елизавета Романовна, Рябченкова  
Анастасия Андреевна, Духовлинов  
Илья Владимирович (RU)**

(74) Представитель:  
**Харин А.В. (RU)**

(56) BAKIROVA R. et al.: Obtaining and Investigation of the  $\beta$ -cyclodextrin Inclusion Complex with Vitamin D3 Oil Solution. SCIENTIFICA (CAIRO), 2020 Aug 17; 2020:6148939, doi: 10.1155/2020/6148939.

PINHO E. et al.: Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds. CARBOHYDRATE POLYMERS, Volume 101, 30 January 2014, Pages 121-135, doi:10.1016/j.carbpol.2013.08.078

EA-B1-018460  
EP-A1-3403510  
CN-A-107156456  
JP-A-2018177786

(57) Изобретение относится к способам получения препарата витамина D3 и препарату, полученному этими способами. В одном варианте способ включает: а) нанесение витамина D3 в виде масляного раствора на порошок  $\beta$ -циклодекстрина или его производного; б) растворение полученного продукта в воде или водном растворе при перемешивании с получением эмульсии. В другом варианте способ включает: а) растворение  $\beta$ -циклодекстрина или его производного в воде; б) добавление к полученному на стадии (а) раствору витамина D3 в виде масляного раствора и подвергание полученной смеси ультразвуковой обработке с образованием эмульсии. Полученный препарат обладает комбинацией улучшенных свойств, включая высокую стабильность эмульсии и высокую биодоступность витамина D3, и пригоден для применения в форме спрея.

**044150**

**B1**

**044150**  
**B1**

### **Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к областям фармацевтики и нутрицевтики. В частности, предложена новая композиция и препарат витамина D<sub>3</sub>, а также способы их получения и применения в питании людей и животных для восполнения дефицита витамина D<sub>3</sub> и в качестве лекарственного средства для лечения состояний и заболеваний, связанных с недостатком витамина D<sub>3</sub>, или состояний и заболеваний, которые можно лечить витамином D<sub>3</sub>.

### **Сведения о предшествующем уровне техники**

Витамин D представляет собой группу жирорастворимых соединений, ответственных за различные биологические эффекты в организме человека и животных. Витамин D обычно встречается в формах витамина D<sub>2</sub> (эргокальциферол) и D<sub>3</sub> (холекальциферол), а последний более эффективен, чем эргокальциферол, в повышении уровня общей активной формы витамина в сыворотке крови. Наиболее известной ролью витамина D является поддержание гомеостаза кальция и фосфора в организме, что реализуется путем обеспечения их всасывания в тонком кишечнике, и поэтому витамин D, способствуя резорбции кости, является важным компонентом для развития костей и поддержания их здоровья. Дефицит витамина D у детей приводит к рахиту, а у пожилых - к снижению плотности костной ткани и риску остеопороза. Помимо этого, витамин D вовлечен в функционирование иммунной системы. В целом, появление и/или тяжесть течения следующих состояний и заболеваний ассоциированы с дефицитом витамина D: рахит, остеопороз, переломы костей, мышечная слабость, шизофрения, депрессия, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, болезнь Паркинсона, туберкулез, пародонтоз, респираторные инфекции и COVID-19, преэклампсия, сердечно-сосудистые, онкологические, аутоиммунные заболевания, сахарный диабет, метаболический синдром и т.д.

Недостаток витамина D<sub>3</sub> можно оценить по концентрации в крови его активного метаболита - кальцидиола (25(OH)D), которая в норме составляет 30-50 нг/мл, а при остром недостатке опускается ниже 12 нг/мл. По некоторым оценкам, около миллиарда жителей планеты могут страдать от недостатка витамина D; в зоне риска находятся дети и пожилые люди.

Примерно 1 млрд человек во всем мире страдает от дефицита витамина D, и около 50% населения мира имеют дефицит витамина D, причем эта проблема касается как развивающиеся, так и для развитые страны. В России по оценкам 2020 г. дефицит наблюдается у 65% населения.

Основные пути поступления витамина D<sub>3</sub> - синтез в коже под воздействием УФ-излучения и алиментарный. Поступление витамина D<sub>3</sub> путем синтеза в коже на самом деле ограничено не только тем, что большая часть Европы и Северной Америки, а также часть Азии находятся выше 37-й параллели, где, как считается, люди не могут получить этим путем достаточное количество витамина D<sub>3</sub>, кроме как летом; но и потребностью людей защититься от канцерогенного действия УФ-излучения использованием солнцезащитных кремов или одежды. Потребление витамина D<sub>3</sub> с пищей также является ограниченным, поскольку немногие натуральные продукты содержат витамин D<sub>3</sub> в достаточном количестве. В связи с этим перспективным способом устранить дефицит витамина D<sub>3</sub> является применение препаратов витамина D в виде пищевых добавок или лекарственных средств. Согласно методическим рекомендациям Роспотребнадзора (РФ), нормой потребления витамина D в рационе составляет 400-600 МЕ/сут, что соответствует рекомендациям Национальных академий США (NASEM). Российская ассоциация эндокринологов рекомендует большие количества - 600-1000 МЕ/сут; а для достижения большинством лиц уровня (25(OH)D) в крови в 30 нг/мл предлагают принимать 1500-2000 МЕ/сут; для достижения больших уровней в случае установленного дефицита витамина D<sub>3</sub> или в случаеотягчающих состояний (нарушений всасывания или ожирения) рекомендуют и большие дозировки: 5000, 10000 МЕ/сут и даже более.

Основная проблема получения эффективных препаратов витамина D<sub>3</sub> связана с его липофильностью, которая ограничивает абсорбцию и, следовательно, биодоступность. Как представляется, при пероральном приеме витамин D<sub>3</sub> растворяется в пищевых жирах, эмульгируется солями желчных кислот и поглощается кишечными энтероцитами. Препараты витамина D<sub>3</sub>, встречающиеся на рынке, включают твердые формы: таблетки, капсулы, порошки; жидкие: масляные растворы и эмульсии. Все они отличаются по профилю биодоступности, при этом твердые формы являются наименее предпочтительными.

Известен сублингвальный и буккальный пути введения, которые обеспечивают попадание в системный кровоток путем всасывания витамина D<sub>3</sub> через слизистую ротовой полости, тем самым минуя энтеральный путь. Как сообщается, при сублингвальном/буккальном приеме биодоступность может быть обеспечена на уровне существующих успешных пероральных препаратов или даже выше. Этот способ особенно подходит для лиц, страдающих от различных нарушений абсорбции (синдром кишечной недостаточности, последствия холецистэктомии), однако он в целом благоприятен для широкого круга лиц ввиду удобства применения.

Эмульгирование витамина D<sub>3</sub> путем заключения в мицеллы, микрокапсулы или липосомы представляется одним из перспективных направлений разработки препаратов этого витамина, поскольку не только позволяет модифицировать профиль биодоступности, но и решить другие сопутствующие проблемы: склонность к агрегации/расслоению, внешний вид, стабильность и т.п.

Один из известных подходов включает получение комплекса включения витамин D<sub>3</sub>:β-

циклодекстрин (Szejtli J., Tardy-Lengyel M., Vitamin-D3  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex. *Drugs of the Future*. V. 9, N. 9, 1984).

$\beta$ -Циклодекстрин имеет циклическое строение, образованное семью остатками глюкозы, при этом внешняя часть молекулы содержит гидроксильные группы и является гидрофильной, а внутренняя - атомы углерода, водорода и эфирные связи, создавая гидрофобную область молекулы, способную вмещать молекулы других веществ, и при помощи слабых ван-дер-ваальсовых сил, гидрофобных взаимодействий и других связей образовывать клатраты или соединения включения. Включение, таким образом, позволяет модифицировать физико-химические свойства продукта.

$\beta$ -циклодекстрин сам по себе имеет преимущество в том, что он абсолютно безопасен при использовании в составе нутрицевтиков и лекарственных веществ, имеют высокую биосовместимость, легко разлагается и выводится организмом.

В публикации Capelezzo, A. P. et al., 2018, " $\beta$ -cyclodextrins as Encapsulating Agents of Essential Oils", in P. Arora, N. Dhingra (eds.), *Cyclodextrin - A Versatile Ingredient*, IntechOpen, London, описаны способы инкапсулирования эфирных масел в  $\beta$ -циклодекстрин: сушка распылением, коацервация, испарение растворителя, экструзия, лиофильная сушка, использование сверхкритической текучей среды.

В публикации Bakirova et al., *Obtaining and Investigation of the  $\beta$ -cyclodextrin Inclusion Complex with Vitamin D3 Oil Solution*. Hindawi Scientifica, Volume 2020, Article ID 6148939, 8 p., описано получение комплекса путем добавления  $\beta$ -циклодекстрина и витамина D3 к раствору этанол:вода, микроволновой обработки, удаления растворителя, промывки ацетоном и сушки с получением белого порошка, который затем можно растворять в воде.

В указанных выше документах не упоминаются методы, основанные на использовании ультразвука или смешивании с сухим  $\beta$ -циклодекстрином.

Известен способ инкапсуляции в  $\beta$ -циклодекстрин с помощью ультразвуковой обработки, однако иного вещества - таксифолина (Kalinina et al., *Sonochemical encapsulation of taxifolin into cyclodextrine for improving its bioavailability and bioactivity for food*. *Encapsulation of Active Molecules and Their Delivery System*, Elsevier, 2020, pp. 85-102).

Известен жидкий пероральный препарат витамина D3 Аквадетрим от Польшфармы, который представляет собой почти прозрачную эмульсию, полученную с макроголом глицерилтрицинолеатом. Хотя данный препарат обладает удовлетворительным и стабильным внешним видом, известно, что препараты с таким эмульгатором обладают профилем биодоступности, который даже хуже, чем у масляных составов витамина D3 (см. Egidijus Šimoliunas, Ieva Rinkunait, Živilė Bukelskien, Virginija Bukelskiene. *Bioavailability of Different Vitamin D Oral Supplements in Laboratory Animal Model Medicina* 2019, 55, 265, см. фиг. 3).

Известен коммерчески доступный препарат в виде спрея для сублингвального/буккального применения SunD3 от LYL (lyl.eu), содержащий: очищенную воду, подсластитель ксилит, загуститель ксантановую камедь, натуральный витамин D3 (полученный из ланолина), натуральный апельсиновый ароматизатор, лимонную кислоту, консервант сорбат калия. Данный препарат имеет нестабильную эмульсию и перед каждым употреблением его необходимо взбалтывать для получения необходимой дозы витамина D3; внешний вид этой эмульсии является не вполне привлекательным, в связи с чем, по-видимому, он выпускается в непрозрачном флаконе.

Таким образом, все еще сохраняется потребность в улучшенных водных составах витамина D3, которые имели бы хорошие биодоступность, стабильность, внешний вид, вкус, и были бы пригодны для сублингвального и/или буккального введения, например в форме спрея или аэрозоля.

#### **Сущность изобретения**

Настоящее изобретение направлено на решение вышеуказанной задачи за счет инкапсуляции молекул витамина D3 в  $\beta$ -циклодекстрин с помощью новых способов.

В первом варианте предложен способ получения препарата витамина D3, включающий следующие стадии:

- а) нанесение витамина D3 в виде масляного раствора на порошок  $\beta$ -циклодекстрина или его производного;
- б) растворение полученного продукта в воде или водном растворе при перемешивании с получением эмульсии.

В частных воплощениях этого способа на стадии (а) после нанесения витамина D3  $\beta$ -циклодекстрин или его производное необязательно выдерживают; время выдерживания может составлять 60-120 мин, а температура - 10-25°C.

На стадии (б) для растворения необязательно используется водный раствор, который может включать один или несколько дополнительных вспомогательных ингредиентов, а перемешивание осуществляют предпочтительно при 1000-3000 об/мин.

Во втором варианте предложен способ получения препарата витамина D3, включающий следующие стадии:

- а) растворение  $\beta$ -циклодекстрина или его производного в воде;

б) добавление к полученному на стадии (а) раствору витамина D3 в виде масляного раствора и подвергание полученной смеси ультразвуковой обработке с образованием эмульсии.

Концентрация  $\beta$ -циклодекстрина в растворе, полученном на стадии (а), предпочтительно составляет 1,85 мас. %.

Растворение на стадии (а) предпочтительно осуществляют перемешиванием при 800-1000 об/мин, предпочтительно при 10-25°C.

Удельная мощность ультразвуковой обработки на стадии (б) предпочтительно составляет 600-1000 Вт/л; предпочтительно ее проводят при 30-50°C.

Оба вышеописанных варианта способа получения препарата витамина D3 могут необязательно включать дополнительную стадию:

в) добавление к полученной на стадии (б) эмульсии одного или нескольких вспомогательных ингредиентов (нутрицевтически и/или фармацевтически приемлемых).

Используемый в способах по изобретению масляный раствор витамина D3 предпочтительно дополнительно содержит смесь токоферолов. Концентрация витамина D3 в масляном растворе предпочтительно составляет 100000-1500000 МЕ/мл. Масло в масляном растворе витамина D3 выбрано из: рафинированного или нерафинированного подсолнечного масла, рафинированного или нерафинированного кокосового масла, оливкового масла, соевого масла, мятного масла, масла расторопши, амарантового масла, кедрового масла, льняного масла, рыбьего жира или любой их смеси.

Вспомогательные ингредиенты, если они используются, выбраны из группы, состоящей из загустителей, регуляторов кислотности, консервантов, носителей, подсластителей, красителей и ароматизаторов.

В еще одном аспекте изобретение относится к препарату витамина D3, полученному способами по изобретению. Препарат отличается тем, что сохраняет стабильность эмульсии в течение по меньшей мере 14 месяцев. В предпочтительном воплощении препарат по изобретению имеет форму спрея или аэрозоля и, следовательно, пригоден для сублингвального и/или буккального введения, не ограничиваясь указанным.

В других аспектах изобретение относится к применению препарата витамина D3 для восполнения дефицита витамина D3 и/или для лечения состояний и заболеваний, связанных с недостатком витамина D3. Соответственно, препарат по изобретению может использоваться в виде нутрицевтика (БАД) или в виде лекарственного средства. Препарат по изобретению может применяться для изготовления лекарственных средств или нутрицевтиков или для обогащения пищевых продуктов витамином D3. В целом, препарат по изобретению пригоден для применения в тех целях, в которых обычно применяют витамин D3.

Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что препарат витамина D3 с  $\beta$ -циклодекстрином, полученный согласно изобретению, обладает превосходным балансом свойств. В частности, препарат по изобретению характеризуется следующими эффектами, по отдельности или в любой комбинации:

превосходная физическая стабильность эмульсии, отсутствие расслоения в пределах срока хранения препарата; в частности, стабильность можно оценить по отсутствию существенного изменения оптической плотности в течение по меньшей мере 14 месяцев, в частности более 24 месяцев и более;

превосходная биодоступность, сравнимая с таковой коммерчески доступных препаратов витамина D3 или даже превосходящая их;

превосходные органолептические свойства, отсутствие неприятных привкусов, стабильность органолептических свойств во времени;

препарат имеет особенное преимущество в том, что может использоваться путем сублингвального и/или буккального введения;

препарат имеет привлекательный внешний вид: гомогенная светло-серая опалесцирующая жидкость; может быть упакован в прозрачный флакон;

обеспечивается срок годности до 24 месяцев без добавления консервантов, даже если основа продукта будет содержать натуральные ягодные/фруктовые соки;

стабильность и органолептические свойства сохраняются на срок более срока годности составляющих препарат ингредиентов.

Кроме того, авторы неожиданно обнаружили, что комплекс витамина D3 с  $\beta$ -циклодекстрином можно получать простыми в осуществлении и низкочастотными способами, которые дают по существу одинаковый результат. Отдельная стадия получения такого комплекса позволяет оптимизировать способ получения препарата в целом и смешивать (примешивать) дополнительные ингредиенты по отдельности, обеспечивая для разных групп ингредиентов индивидуальные условия (например, температура, влажность, продолжительность и т.д.); процесс получения ускоряется без негативных последствий для розлива, стабильности эмульсии, при этом уменьшается отклонение дозировок и не допускается окисление активных компонентов. Наконец, получение препарата не сопряжено с использованием растворителей типа ацетона, этанола и прочих, что снижает риски для потребителей.

#### **Перечень графических материалов**

Фиг. 1 - диаграмма зависимости оптической плотности (вертикальная ось, OD<sub>600</sub>) от времени (гори-

зонтальная ось, помесечное измерение); "эксперимент" - образец, полученный согласно способу по изобретению; "контроль" - композиция того же состава, но полученная обычным смешиванием в растворе.

Фиг. 2 - диаграмма, показывающая биодоступность витамина D3 в крови мышей при нанесении на слизистую рта (нг/мл); обозначения: 1 - водная эмульсия витамина D3 10000 МЕ/мл (60 МЕ/доза) с витамином Е (1%) и ксилитом (25%); 2 - раствор витамина D3 10000 МЕ/мл 60IU/доза) в масле; 3 - водная эмульсия витамина D3 10 000 МЕ/мл (60 МЕ/доза) с ксилитом (25%); 4 - водная эмульсия витамина D3 10000 МЕ/мл (60 МЕ/доза) с  $\beta$ -циклодекстрином (1,85%) и ксилитом (25%); 5 - отрицательный контроль (масло); 6 - положительный контроль - препарат SunD3 (LYL).

### Подробное описание изобретения

#### Терминология

Все используемые термины имеют значения, соответствующие принятым в данной области, если более специфическое или иное толкование не определено в данном документе и не следует из контекста.

При использовании терминов в единственном числе подразумевается, там, где допускает контекст, что возможно и множественное число, и наоборот.

Термины "включающий", "содержащий", "имеющий" и т.п. означают, что помимо указанных элементов могут содержаться иные неоговоренные (несущественные) элементы, например способы по изобретению могут включать дополнительные необязательные стадии до, между или после специально оговоренных, а препарат может включать дополнительные необязательные ингредиенты помимо специально оговоренных. В каждом случае данные термины также охватывают значение "состоящий из", т.е. в одном из воплощений подразумевают, что описываемый объект характеризуется наличием только указанных элементов.

Упомянутые численные значения подразумевают как ровно указанное значение, так и примерно соответствующее ему (для этого также используются термины "около", "примерно", "приблизительно"), что определяется отклонением в большую и/или меньшую сторону на 10, 5, 2 или 1 % или, в случае параметров, которые могут быть измерены с определенной точностью, в пределах ошибки измерений, характерной для средств, типично применяющихся для измерения конкретного параметра.

Приводимые интервалы по умолчанию подразумевают, что непосредственно раскрыты как граничные значения интервалов, так и все содержащиеся в интервале значения. Любые раскрытые численные значения могут выступать в качестве границ интервалов.

Термины "биологически активная добавка (БАД)", "нутрицевтик", "биологически активное вещество", "пищевая добавка", "пищевой ингредиент" используются взаимозаменяемо и обозначают продукт - биологически активное вещество и его композиции - пригодные для употребления в пищу или с пищей. БАДы являются дополнительным источником биологически активных веществ, предназначенные для восполнения их дефицита или балансировки рациона питания. БАДам может быть придана форма, соответствующая лекарственной форме.

Нутрицевтик по изобретению пригоден для введения не только человеку, но и животным.

Под термином "фармацевтическая композиция" понимается лекарственный состав, лекарственное средство или лекарственный препарат, которые пригодны для лечения и/или профилактики определенных заболеваний. Фармацевтическая композиция содержит одно или более активных веществ вместе с другими компонентами, в частности физиологически/фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами (эксципиентами), и может быть оптимизирована для желаемого пути введения. Фармацевтическая композиция включает активное вещество в "терапевтически эффективной дозе" или в "терапевтически эффективном количестве", которые означают дозу или количество, при которых проявляются терапевтические эффекты, связанные с активным веществом.

"Фармацевтический" или "фармацевтически приемлемый" относится к химическим соединениям и композициям, которые не приводят к побочной, аллергической или другой нежелательной реакции при введении млекопитающему, в частности человеку, или такие реакции сведены к минимуму.

В настоящем изобретении фармацевтические композиции и препараты витамина D3 применяются согласно известным назначениям и показаниям, характерным для витамина D3.

"МЕ" обозначает международную единицу; для витамина D3 1 МЕ = 0,025 мкг.

#### Способы

В первом варианте способа получения масляный раствор витамина D3 наносят на порошок  $\beta$ -циклодекстрина или его производного. В некоторых воплощениях указанный порошок может быть дополнительно высушен. Метод нанесения особо не ограничивается и может быть осуществлен путем равномерного распыления указанного раствора на порошок вручную или автоматизированным способом (периодическим или непрерывным) с помощью подходящего аппарата или установки, обеспечивающих нанесение раствора на порошок. В качестве неограничивающего примера можно привести гранулятор или иной тип устройств, обеспечивающих эффективный контакт жидкого и твердого вещества. Необязательно и предпочтительно, получаемую смесь раствора и порошка дополнительно перемешивают, еще более предпочтительно перемешивание производят во время нанесения раствора на порошок и/или сразу после такого нанесения.

После стадии нанесения предпочтительно смесь выдерживают неограниченное время, например от 0 до 24 ч, в частности 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ч, или указанное время входит в пределы любого диапазона, образуемого указанными значениями. В предпочтительных воплощениях время выдерживания составляет 0-120 мин, в частности 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120 мин или входит в пределы любого диапазона, образуемого указанными значениями. Температура выдерживания предпочтительно составляет 5-40°C, например 5-35, 5-30, 10-35, 10-30, 10-25, 15-35, 15-30, 15-25, 15-20, 20-25°C, предпочтительно 10-25°C, наиболее предпочтительно температура соответствует комнатной (около 25°C).

На второй стадии первого варианта способа полученный продукт (смесь) растворяют в воде или водном растворе при перемешивании. Время растворения особо не ограничивается и может составлять 0-24 ч, например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ч или входит в пределы любого диапазона, образуемого указанными значениями. В предпочтительных воплощениях время растворения составляет 0-120 мин, в частности 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120 мин или входит в пределы любого диапазона, образуемого указанными значениями. Скорость мешалки предпочтительно составляет 1000-3000 об/мин, например 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 об/мин, или выбрана из любого диапазона, образуемого этими значениями. Температура растворения предпочтительно составляет 20-40, 20-35, 20-30 или 25-30°C, наиболее предпочтительно около 25°C. Полученный раствор при необходимости фильтруют и/или отделяют избыток масляной фазы. Вместо воды можно использовать водный раствор, который включает один или несколько дополнительных вспомогательных ингредиентов, например такие, которые упомянуты далее. Если используется вода, то дополнительные вспомогательные ингредиенты могут быть добавлены в раствор по окончании стадии (б).

Во втором варианте способа сначала получают раствор  $\beta$ -циклодекстрина или его производного в воде. Температура растворения предпочтительно составляет 10-40°C, например 10-35, 10-30, 10-25, 15-40, 15-35, 15-30, 15-25, 20-35, 20-30, 20-25, 25-30°C, наиболее предпочтительно около 25°C. Скорость мешалки предпочтительно составляет 800-3000 об/мин, например 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 об/мин, или выбрана из любого диапазона, образуемого этими значениями; предпочтительно скорость мешалки составляет 900 об/мин. Полученный раствор при необходимости фильтруют.

На следующей стадии второго варианта способа к раствору  $\beta$ -циклодекстрина или его производного добавляют масляный раствор витамина D3 и подвергают полученную смесь ультразвуковой обработке с образованием эмульсии. Ультразвуковая обработка может быть осуществлена с помощью ультразвукового гомогенизатора (дизинтегратора), параметры которого устанавливаются согласно известным специалистам подходам в зависимости, в частности, от объема или потока жидкости, подлежащей обработке (см., например, Peshkovsky A. S., Peshkovsky S. L., Bystryak S., Scalable high-power ultrasonic technology for the production of translucent nanoemulsions, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, V. 69, 2013, pp. 77-82; Taha A., Ahmed E., Ismaiel A. et al., Ultrasonic emulsification: An overview on the preparation of different emulsifiers-stabilized emulsions, *Trends in Food Science & Technology*, V. 105, 2020, pp. 363-377). Обработка может проводиться в непрерывном, полунепрерывном и периодическом режиме. Частота обработки составляет, как правило, примерно 19-24 кГц, например 19, 20, 21, 22, 23, 24 (включая любые диапазоны, образуемые указанными значениями), предпочтительно около 20 кГц. Мощность выбирается в диапазоне 50-3000 Вт, и особенно не ограничена, т. е. может составлять выше 3000 Вт. Выбор мощности определяется, как правило, производственными нуждами, как известно специалистам в данной области, и может выражаться в расчете на объем обрабатываемой жидкости. В неограничивающих воплощениях удельная мощность составляет 500-1500 Вт/л, в частности 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500 Вт/л, или входит в диапазон, образуемый любыми из указанных значений. Предпочтительно, удельная мощность ультразвуковой обработки составляет 600-1000 Вт/л.

В неограничивающих воплощениях время обработки составляет 0-60 мин, например от 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 мин, до 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 мин или выбрана из любого диапазона, образованного указанными значениями. Предпочтительно время обработки составляет 2-8 мин. В неограничивающих воплощениях амплитуда зонда составляет 70 мкм или выше, предпочтительно 75 мкм или выше, 80 мкм или выше, 85 мкм или выше, 90 мкм или выше, 95 мкм или выше, 97 мкм или выше, 100 мкм или выше, 110 мкм или выше, 112 мкм или выше, 115 мкм или выше. Температура обработки необязательно составляет от 10 до 60°C, например от 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 мин до 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21 или 20 мин, или выбрана из диапазона, образуе-

мого любыми из указанных значений.

В обоих вариантах способа возможна дополнительная стадия добавления одного или нескольких вспомогательных ингредиентов. Добавление может быть осуществлено в один этап или в несколько, и в последнем случае вспомогательные ингредиенты добавляют индивидуально или по несколько зараз. В зависимости от конкретного ингредиента он может быть добавлен в жидком или твердом виде. В частности, в некоторых воплощениях может быть целесообразно получить отдельный раствор ингредиента и добавить его в эмульсию, полученную на стадии (б).

Готовый препарат упаковывают в подходящую емкость, предпочтительно разливают в емкости, пригодные для непосредственного применения потребителем.

Препарат по изобретению обладает превосходной физической стабильностью, что можно оценить по отсутствию существенного изменения оптической плотности в течение по меньшей мере 14 месяцев. В частности, этот срок может достигать по меньшей мере 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 месяцев и более, или этот срок может входить в диапазон, образуемый любыми из указанных значений. Таким образом, препарат характеризуется отсутствием существенного изменения оптической плотности в течение срока использования и/или срока хранения препарата, который может составлять 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, или 3, или более лет.

### Препарат

Витамин D3 и  $\beta$ -циклодекстрин могут быть получены из любого источника без ограничения, как известно специалистам. Например, витамин D3 может быть получен путем экстракции 7-дегидрохолестерола из ланолина и его УФ-облучения или путем экстракции витамина D3 из лишайника.  $\beta$ -Циклодекстрин получают, как правило, путем ферментативной обработки крахмала.

Масло для получения раствора витамина D3 может быть выбрано по существу из любого пригодного для употребления в пищу масла растительного или животного происхождения. Примеры масел растительного происхождения включают персиковое, миндальное, касторовое, оливковое, подсолнечное, сафлоровое, соевое, кокосовое, пальмовое, мятное, амарантовое, льняное, расторопши, арахисовое, кукурузное, рапсовое, конопляное, хлопковое, абрикосовое, виноградных косточек, грецкого ореха, кедрового ореха, зародышей пшеницы, кунжутное, фундучное, макадамии, маковое, малиновых косточек, миндальное, маракуйи, облепиховое, рисовое, горчичное, рыжиковое, тыквенное, фисташковое, их смеси, фракции и смеси фракций. Масла могут быть рафинированными или нерафинированными. Примеры масел животного происхождения включают рыбий жир, жидкие жиры земноводных, пресмыкающихся, водных и сухопутных млекопитающих, их смеси, фракции и смеси фракций. Понятно, что масло (жир) должно быть жидким при комнатных условиях.

Предпочтительно, раствор витамина D3 содержит одно или несколько веществ из группы витамина E (токоферолы ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) и токотриенолы ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ )). Присутствие витамина E, который обладает естественными антиоксидантными свойствами, позволяет стабилизировать витамин D3.

Соотношение витамина D3 и  $\beta$ -циклодекстрина специально не ограничивается. Теоретическое молярное соотношение для получения комплекса составляет 2:1 ( $\beta$ -циклодекстрин:витамин D3), однако в практическом плане предпочтительно использовать избыток  $\beta$ -циклодекстрина; например, молярное соотношение  $\beta$ -циклодекстрин:витамин D3 для получения препарата может составлять от 2:1 до 5:1, например 2,0:1, 2,1:1, 2,2:1, 2,3:1, 2,4:1, 2,5:1, 2,6:1, 2,7:1, 2,8:1, 2,9:1, 3,0:1, 3,1:1, 3,2:1, 3,3:1, 3,4:1, 3,5:1, 3,6:1, 3,7:1, 3,8:1, 3,9:1, 4:1, 4,1:1, 4,2:1, 4,3:1, 4,4:1, 4,5:1, 4,6:1, 4,7:1, 4,8:1, 4,9:1, 5:1 (включая любые поддиапазоны, образуемые любыми двумя из этих значений). В варианте способа получения, в котором используется раствор  $\beta$ -циклодекстрина, он может быть получен в максимальной концентрации, которая при комнатной температуре (25°C) в воде составляет приблизительно 18,5 г/л (1,85 мас.%). Таким образом, любые значения концентрации  $\beta$ -циклодекстрина, соответствующие 18,5 г/л или менее могут быть использованы в изобретении. Например,  $\beta$ -циклодекстрин может быть использован в концентрации около 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14, 14,5, 15, 15,5, 16, 16,5, 17, 17,5, 18, 18,5 г/л (включая любые поддиапазоны, образуемые любыми двумя из этих значений).

Вместо  $\beta$ -циклодекстрина как такового могут быть использованы его производные. Следует учесть, что растворимость в воде производных отличается в зависимости от характера модификации, что следует учесть при расчете состава препарата. Наиболее целесообразно использовать производные  $\beta$ -циклодекстрина, модифицированные гидрофильными группами, поскольку растворимость в воде такого производного будет выше, чем растворимость  $\beta$ -циклодекстрина. Для некоторых производных растворимость может быть в 10-20 раз выше, чем у  $\beta$ -циклодекстрина. Наиболее распространенные производные  $\beta$ -циклодекстрина, приемлемые в данной области, включают алкилированные (например, метилированные), гидроксилалкилированные (например, гидроксипропилированные) и сульфолалкилированные (например, сульфопропилированные или сульфобутилированные), сульфатированные производные (Khalid, S. H. et al., 2019, 'Effect of Cyclodextrin Derivatization on Solubility and Efficacy of Drugs', in S. Karakuş. (ed.), Colloid Science in Pharmaceutical Nanotechnology, IntechOpen, London. 10.5772/intechopen.90364). Предпочтительные примеры пригодных производных включают, не ограничиваясь указанным, метил- $\beta$ -

циклодекстрин (MCD), гидроксипропил-β-циклодекстрин (HPCD) и карбоксиметил-β-циклодекстрин (CMCD).

Содержание витамина D3 в препарате особо не ограничено и рассчитывается, прежде всего, таким образом, чтобы при дозировании в одной дозе содержалось определенное количество МЕ витамина D3. В неограничивающих воплощениях, концентрация витамина D3 в препарате составляет от 0,025 до 10 г/л. Например, нижний предел содержания витамина D3 в препарате ("от") составляет (г/л): 0,025, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,105, 0,11, 0,115, 0,12, 0,125, 0,13, 0,135, 0,14, 0,145, 0,15, 0,155, 0,16, 0,165, 0,17, 0,175, 0,18, 0,185, 0,19, 0,195, 0,2, 0,205, 0,21, 0,215, 0,22, 0,225, 0,23, 0,235, 0,24, 0,245, 0,25, 0,255, 0,26, 0,265, 0,27, 0,275, 0,28, 0,285, 0,29, 0,295, 0,3, 0,305, 0,31, 0,315, 0,32, 0,325, 0,33, 0,335, 0,34, 0,345, 0,35, 0,355, 0,36, 0,365, 0,37, 0,375, 0,38, 0,385, 0,39, 0,395, 0,4, 0,405, 0,41, 0,415, 0,42, 0,425, 0,43, 0,435, 0,44, 0,445, 0,45, 0,455, 0,46, 0,465, 0,47, 0,475, 0,48, 0,485, 0,49, 0,495, 0,5, 0,505, 0,51, 0,515, 0,52, 0,525, 0,53, 0,535, 0,54, 0,545, 0,55, 0,555, 0,56, 0,565, 0,57, 0,575, 0,58, 0,585, 0,59, 0,595, 0,6, 0,605, 0,61, 0,615, 0,62, 0,625, 0,63, 0,635, 0,64, 0,645, 0,65, 0,655, 0,66, 0,665, 0,67, 0,675, 0,68, 0,685, 0,69, 0,695, 0,7, 0,705, 0,71, 0,715, 0,72, 0,725, 0,73, 0,735, 0,74, 0,745, 0,75, 0,755, 0,76, 0,765, 0,77, 0,775, 0,78, 0,785, 0,79, 0,795, 0,8, 0,805, 0,81, 0,815, 0,82, 0,825, 0,83, 0,835, 0,84, 0,845, 0,85, 0,855, 0,86, 0,865, 0,87, 0,875, 0,88, 0,885, 0,89, 0,895, 0,9, 0,905, 0,91, 0,915, 0,92, 0,925, 0,93, 0,935, 0,94, 0,945, 0,95, 0,955, 0,96, 0,965, 0,97, 0,975, 0,98, 0,985, 0,99, 0,995, 1; верхний предел содержания витамина D3 в препарате ("до") составляет (г/л): 10, 9,9, 9,8, 9,7, 9,6, 9,5, 9,4, 9,3, 9,2, 9,1, 9, 8,9, 8,8, 8,7, 8,6, 8,5, 8,4, 8,3, 8,2, 8,1, 8, 7,9, 7,8, 7,7, 7,6, 7,5, 7,4, 7,3, 7,2, 7,1, 7, 6,9, 6,8, 6,7, 6,6, 6,5, 6,4, 6,3, 6,2, 6,1, 6, 5,9, 5,8, 5,7, 5,6, 5,5, 5,4, 5,3, 5,2, 5,1, 5, 4,9, 4,8, 4,7, 4,6, 4,5, 4,4, 4,3, 4,2, 4,1, 4, 3,9, 3,8, 3,7, 3,6, 3,5, 3,4, 3,3, 3,2, 3,1, 3, 2,9, 2,8, 2,7, 2,6, 2,5, 2,4, 2,3, 2,2, 2,1, 2, 1,9, 1,8, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,2, 1,1, 1, 0,95, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,65, 0,6, 0,55, 0,5, 0,45, 0,4, 0,35, 0,3, 0,25, 0,2, 0,15.

В предпочтительном воплощении в состав препарата может быть включен один или несколько подсластителей, выбор которых по существу не ограничен. При добавлении подсластителя возможно дополнительно улучшить биодоступность витамина D3. В неограничивающих воплощениях подсластитель выбран из сахарозы, глюкозы, фруктозы, декстрозы, галактозы, инулина, ацесульфата калия, алитама, аспартама, изомальта, мальтита, маннита, ксилита, сорбита, сукралозы, эритрита, стевиозида, цикламата, неогесперицина, тауматина, глициррицина, лактулозы, лактозы, сахарина или их смесей. Особенно предпочтительны некалорийные заменители, а также такие, которые благоприятны для зубов. Предпочтительно подсластитель выбран из сукралозы, ксилита, эритрита, стевиозида или их смесей. Количество подсластителя выбирается в зависимости от относительной сладости и может быть определено специалистом в данной области.

Для повышения вязкости в состав препарата по изобретению может необязательно быть включен один или несколько загустителей или модификаторов вязкости, которые выбраны, без ограничения, из камедей (рожкового дерева, аравийской, ксантановой, гуаровой, трагаканта, альгинаты, каррагинан), желатина, поливинилпирролидона, поливинилового спирта, поллоксамера, карбомеров, производных целлюлозы (метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза и т.п.).

Препарат по изобретению необязательно содержит регулятор кислотности, который выбран из фруктовых кислот, например лимонной, яблочной, винной, молочной или их смесей, не ограничиваясь указанным.

В препарат могут быть добавлены один или несколько консервантов, выбранных из бензоата натрия, пропионата натрия, сорбата калия, бензалкония хлорида, бензилового спирта, сорбиновой кислоты, не ограничиваясь указанным. Вместе с тем предлагаемый состав препарата обеспечивает бактериостатический эффект, который позволяет обходиться без консерванта при сроках годности до 24 месяцев. Соответственно, в одном из предпочтительных воплощений препарат по изобретению не содержит консервант.

В состав препарата могут необязательно входить ароматические агенты природного или синтетического происхождения, в том числе ароматизаторы на основе ягодных или фруктовых соков.

Помимо указанных выше препарат по изобретению может содержать один или несколько других ингредиентов, приемлемых в соответствующей области применения, в том числе фармацевтически и/илинутрицевтически приемлемые вспомогательные вещества, в частности поверхностно-активные вещества или эмульгаторы, буферы, антиоксиданты, хелатирующие агенты, красители.

#### Применение и дозы

Препарат по изобретению пригоден для энтерального применения согласно любым назначениям и показаниям, характерным для витамина D3, как известно специалисту в областинутрицевтики и фармакологии. Хотя в наибольшей мере преимущества препарата проявляются при сублингвальном и буккальном введении, препарат может вводиться и перорально.

В случае фармацевтического применения препарат может применяться для профилактики и лечения (не ограничиваясь указанным): дефицита витамина D, например у людей, которым с пищей поступает недостаточное количество витамина D, беременных и кормящих женщин, детей; рахита и рахитоподобных заболеваний; гипокальциемической тетании; остеопении; метаболических остеопатий, напри-



мер гипопаратиреоз и псевдогипопаратиреоз; семейной гипофосфатемии; для лечения остеопороза, в частности постменопаузного (в составе комплексной терапии); для профилактики депрессии, диабета 2 типа, метаболического синдрома, аутоиммунных заболеваний, протеинурии, гипертонии, рака толстой кишки, рака молочной железы, сердечно-сосудистых заболеваний, нервно-психических расстройств, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, болезни Паркинсона, туберкулеза, эректильной дисфункции и т.д.

Препарат может быть использован в качестве сырья для изготовления лекарственных средств, содержащих витамин D3.

В случае нутрицевтического применения препарат может применяться индивидуально в виде БАД для восполнения дефицита витамина D и/или профилактики и/или сопровождения лечения заболеваний или состояний, при которых показан прием витамина D3. Альтернативно, препарат может представлять собой добавку в пищу людей или корм животным.

Одна доза препарата может содержать 100-20000 МЕ витамина D3. Например, нижний предел дозы витамина D3 в препарате ("от") может составлять (МЕ): 100, 200, 300, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1550, 1600, 1650, 1700, 1750, 1800, 1850, 1900, 1950, 2000; верхний предел дозы витамина D3 в препарате ("от") может составлять (МЕ): 20000, 19000, 18000, 17000, 16000, 15000, 14000, 13000, 12000, 11000, 10000, 9500, 9000, 8500, 8000, 7500, 7000, 6500, 6000, 5500, 5000, 4500, 4000, 3500, 3000, 2950, 2900, 2850, 2800, 2750, 2700, 2650, 2600, 2550, 2500, 2450, 2400, 2350, 2300, 2250, 2200, 2150, 2100, 2050, 2000, 1950, 1900, 1850, 1800, 1750, 1700, 1650, 1600, 1550, 1500, 1450, 1400, 1350, 1300, 1250, 1200, 1150, 1100, 1050, 1000, 950, 900, 850, 800, 750, 700, 650, 600.

В случае фармацевтического применения конкретная доза выбирается лечащим врачом с учетом принятых рекомендаций и стандартов, состояния пациента (конкретное заболевание/состояние, особенности метаболизма, противопоказания и т.п.), а также динамики лечения. Предпочтительно проводится контроль уровня 25(OH)D в крови, и при необходимости дозу корректируют.

В случае нутрицевтического применения предпочтительная суточная доза может составлять 400-600 МЕ для детей возрастом до 6 месяцев, 600-2000 МЕ для детей старше 6 месяцев и взрослых до 75 лет, 2000-4000 МЕ - для престарелых старше 75 лет; терапевтические дозы, как правило, выше и могут составлять 1000-2000 МЕ для детей возрастом до 1 месяца до года, 2000-6000 МЕ для детей старше года и взрослых. Считается, что суточная доза 10000 МЕ является безопасной для большинства пациентов.

Подробности о том, как назначать дозы и режимы лечения и профилактики с помощью витамина D3, известны специалистам (Bleizgys A. Vitamin D Dosing: Basic Principles and a Brief Algorithm (2021 Update). Nutrients. 2021 Dec 10;13(12):4415).

Препарат может быть упакован в контейнер, пригодный к дозированию определенной или произвольной дозы. В частности, контейнер может быть пригоден для выдачи за одно применение одной дозы, указанной выше.

Контейнер может иметь пипетку или капельницу для выдачи определенного количества препарата. Контейнер может иметь распылительную насадку (т.е. препарат имеет форму спрея)

соответственно, одно нажатие может быть адаптировано для выдачи одной дозы. Контейнер может быть выполнен в виде баллона, в котором композиция витамина D3 находится под давлением (т.е. препарат имеет форму аэрозоля), при этом конструкция распылительной насадки может быть выполнена таким образом, чтобы выдавать за одно нажатие определенную дозу препарата или выдавать неопределенную дозу препарата. В частности, аэрозольный баллон может быть пригоден для выдачи за одно применение одной дозы, указанной выше. Конструктивное исполнение подходящих контейнеров известно специалистам в данной области.

Дополнительное преимущество препарата по изобретению при использовании в форме спрея или аэрозоля заключается в том, что ввиду стабильности препарата сопло распылителя реже засоряется в течение срока эксплуатации. Тем самым обеспечивается меньший разброс значения выдаваемой дозы витамина D3 в период использования препарата и отсутствие необходимости промывать распылитель.

#### **Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения**

Пример 1.

Вариант 1:

Необходимое количество масляного раствора витамина D3 (рафинированное подсолнечное масло, смесь токоферолов, витамин D3 - 1000000 МЕ/мл) наносили на необходимое количество сухого β-циклодекстрина и оставляли при 25°C на 60 мин. После этого полученный продукт растворяли в необходимом количестве дистиллированной воды на магнитной мешалке (1000 об/мин) до получения эмульсии, имеющей вид однородной светло-серой опалесцирующей жидкости.

Вариант 2:

β-циклодекстрин растворяли в воде в концентрации 1,85% (г/100 мл) на магнитной мешалке (900 об/мин) при 25°C. После этого в полученный раствор добавляли масляный раствор витамина D3 (рафинированное подсолнечное масло, смесь токоферолов, витамин D3 - 1000000 МЕ/мл). Далее полученную

смесь подвергали обработке на ультразвуковом эмульгаторе (60 Вт) при 30°C до образования эмульсии, имеющей вид гомогенной светло-серой опалесцирующей жидкости.

Пример 2.

Определяли стабильность эмульсии, полученной согласно примеру 1 (вариант 1), с помощью фотометрии, определяя оптическую плотность в сравнении с контрольной эмульсией, содержащей те же компоненты и в тех же количествах, за исключением того, что контрольная эмульсия получена способом, отличающимся от способа по изобретению (перемешивание в растворе  $\beta$ -циклодекстрина и витамина D3 на лабораторном шейкере). Измерения оптической плотности проводили 1 раз в месяц при длине волны излучения 600 нм. Перед измерением образцы разводили стерильной водой в 4 раза. Результаты измерений представлены на фиг. 1.

В случае с контрольным образцом наблюдалось осветление (снижение оптической плотности при 600 нм), что говорит о расслоении раствора и разрушении эмульсии. В случае экспериментальной эмульсии такого не происходит, внешний вид сохраняется.

Аналогичные результаты получены для эмульсии, полученной согласно варианту 2 из примера 1.

Пример 3.

Сохранение органолептических свойств эмульсии согласно примеру 1 (вариант 1) оценивали группой добровольцев (10 человек - экспериментальная эмульсия и 10 человек - контрольная эмульсия (содержит те же компоненты и в тех же количествах, за исключением того, что контрольная эмульсия получена способом, отличающимся от способа по изобретению (перемешивание в растворе  $\beta$ -циклодекстрина и витамина D3 на лабораторном шейкере)) по 10-балльной шкале. Оценку проводили через неделю после получения эмульсий и повторно через год. Вкусовые качества экспериментальной и контрольной эмульсий через неделю после смешивания были оценены в среднем на 7,4 и 7,0 баллов соответственно. При повторной оценке через год экспериментальную эмульсию оценили в среднем на 6,9 баллов, в то время как контрольную эмульсию оценили в среднем на 5,4 балла. Аналогичные результаты получены для эмульсии, полученной согласно варианту 2 из примера 1. Полученные результаты свидетельствуют об улучшении сохранения органолептических свойств препарата по изобретению во времени.

Пример 4.

Проводили исследование биодоступности препарата по изобретению. Исследовали следующие составы:

Отрицательный контроль без витамина D3 (масло) (0 МЕ/доза)

Положительный контроль (SunD3 (LYL)) 10000 МЕ/мл (60 МЕ/доза)

Водная эмульсия витамина D3 (раствор в масле) 10000 МЕ/мл с 25% ксилита (60 МЕ/доза)

Водная эмульсия витамина D3 (раствор в масле) 10000 МЕ/мл (60 МЕ/доза) с 1% витамина Е и 25% ксилита

Водная эмульсия витамина D3 (раствор в масле) 10000 МЕ/мл (60 МЕ/доза) с 1,85%  $\beta$ -циклодекстрина и 25% ксилита (эмульсия получена способом, аналогичным примеру 1, вариант 1)

Раствор витамина D3 в масле 10000 МЕ/мл (60 МЕ/доза)

#### **Введение**

В течение 7 дней 6 группам мышей (по 5 особей) при помощи механического дозатора в ротовую полость вводили исследуемые образцы (6 мкл), обеспечивая контакт со слизистой ротовой полости (доза 60 МЕ/сут). Отбор крови у мышей осуществляли спустя час после последнего введения, поскольку в это время наблюдается  $C_{\max}$  для 25(OH)D3.

Эксперимент проводился по двойному слепому протоколу: в процессе эксперимента человек, проводивший кормление, и человек, проводивший ИФА анализ, не знали, какой из анализов получает конкретная группа мышей. Все образцы и группы были обезличены и пронумерованы.

#### **Подготовка мышинных сывороток**

Отобранные образцы крови помещали в твердотельный термостат на 1,5 ч при 37°C, далее дважды центрифугировали (15 мин при 3500×g) с последующим отбором сыворотки крови (плазмы крови без фибриногена).

#### **Проведение ИФА анализа и результаты**

Проводили иммуноферментный анализ с помощью набора 25-OH Vitamin D (total) EIA-5396 от DRG Instruments GmbH (Германия) согласно инструкции производителя. Вычисляли уровень 25(OH)D в нг/мл.

#### **Полученные результаты и выводы**

Результаты представлены на фиг. 2. Из диаграммы следует, что экспериментальные группы достоверно различаются по содержанию витамина D3 в крови, а исследуемые препараты показывают разную степень эффективности в сравнении с контролем и в зависимости от состава. В сравнении с коммерчески доступным препаратом SunD3 препарат по изобретению обеспечивает гораздо большую биодоступность. Несмотря на то, что еще большей биодоступностью, чем препарат по изобретению, обладает состав, включающий витамин D3 и ксилит, но не содержащий  $\beta$ -циклодекстрин, он неприемлем с точки зрения стабильности эмульсии (подвержена быстрому расслоению) и этот состав потребует в дальнейшем до-

бавления стабилизаторов.

Пример 5.

Составы препаратов по изобретению, пригодных для применения в форме спреев, приведены в таблице ниже

| Компоненты                                                                                                                                         | Количество,                                                         | Количество,                                                         | Роль                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------|
|                                                                                                                                                    | Препарат<br>600 МЕ                                                  | Препарат<br>2000 МЕ                                                 |                       |
| Вода, мл (г)                                                                                                                                       | 24,5335                                                             | 24,0372                                                             | растворитель          |
| Ксантановая камедь (E415), г                                                                                                                       | 0,24178                                                             | 0,24178                                                             | загуститель           |
| Лимонная кислота (E330), г                                                                                                                         | 0,11932                                                             | 0,11932                                                             | регулятор кислотности |
| Сорбат калия (E202), г                                                                                                                             | 0,0314                                                              | 0,0314                                                              | консервант            |
| $\beta$ -циклодекстрин (E459), г                                                                                                                   | 0,0314                                                              | 0,0314                                                              | носитель              |
| Бензоат натрия (E211), г                                                                                                                           | 0,0314                                                              | 0,0314                                                              | консервант            |
| Сукралоза (E955), г                                                                                                                                | 0,007536                                                            | 0,007536                                                            | подсластитель         |
| Витамин D3 (масло подсолнечное рафинированное 96,5 %, холекальциферол 2,5 %, концентрат смеси токоферолов (E306) в качестве антиокислителя 1 %), г | 0,15<br>(содержание<br>витамина<br>D3 – 3750<br>мкг =<br>150600 МЕ) | 0,5<br>(содержание<br>витамина<br>D3 – 12500<br>мкг =<br>500000 МЕ) | активное<br>вещество  |
| Ароматизатор, мл                                                                                                                                   | 0,095                                                               | 0,095                                                               | ароматизатор          |
| Итого, мл                                                                                                                                          | 25,241336                                                           | 25,095036                                                           |                       |
| Итого, г                                                                                                                                           | 31,4                                                                | 31,4                                                                |                       |

Плотность полученного препарата 1,256 г/мл; одна доза (впрыск) - 0,1 мл, 600 МЕ/2000 МЕ

Представленные выше примеры предназначены лишь для иллюстрации изобретения, но не должны толковаться как ограничение объема прав патентообладателя, который определяется исключительно формулой изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

- Способ получения препарата витамина D3, включающий следующие стадии:
  - нанесение витамина D3 в виде масляного раствора на порошок  $\beta$ -циклодекстрина или его производного;
  - растворение полученного продукта в воде или водном растворе при перемешивании с получением эмульсии.
- Способ по п.1, где на стадии (а) после нанесения витамина D3  $\beta$ -циклодекстрин или его производное выдерживают при 10-25°C.
- Способ по п.2, где время выдерживания составляет 60-120 мин.
- Способ по любому из пп.1-3, где на стадии (б) водный раствор включает один или несколько дополнительных вспомогательных ингредиентов.
- Способ по любому из пп.1-4, где на стадии (б) перемешивание осуществляют при 1000-3000 об/мин.
- Способ получения препарата витамина D3, включающий следующие стадии:
  - растворение  $\beta$ -циклодекстрина или его производного в воде;
  - добавление к полученному на стадии (а) раствору витамина D3 в виде масляного раствора и подвергание полученной смеси ультразвуковой обработке с образованием эмульсии.
- Способ по п.6, где концентрация  $\beta$ -циклодекстрина в растворе, полученном на стадии (а), составляет 1,85 мас. %.
- Способ по п.6 или 7, где растворение на стадии (а) осуществляют перемешиванием при 800-1000 об/мин.
- Способ по любому из пп.6-8, где растворение на стадии (а) осуществляют при 10-25°C.
- Способ по любому из пп.6-9, где удельная мощность ультразвуковой обработки на стадии (б) составляет 600-1000 Вт/л.
- Способ по любому из пп.6-10, где ультразвуковую обработку на стадии (б) осуществляют при 30-50°C.
- Способ по любому из пп.1-11, дополнительно включающий следующую стадию:
  - добавление к полученной на стадии (б) эмульсии одного или нескольких вспомогательных ин-

гредиентов.

13. Способ по любому из пп.1-12, где масляный раствор витамина D3 дополнительно содержит смесь токоферолов.

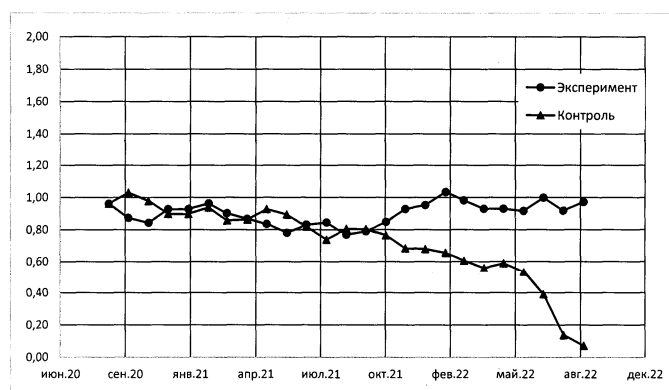
14. Способ по любому из пп.1-13, где концентрация витамина D3 в масляном растворе составляет 100000-1500000 МЕ/мл.

15. Способ по любому из пп.1-14, где масло в масляном растворе витамина D3 выбрано из рафинированного или нерафинированного подсолнечного масла, рафинированного или нерафинированного кокосового масла, оливкового масла, соевого масла, мятного масла, масла расторопши, амарантового масла, кедрового масла, льняного масла, рыбьего жира или любой их смеси.

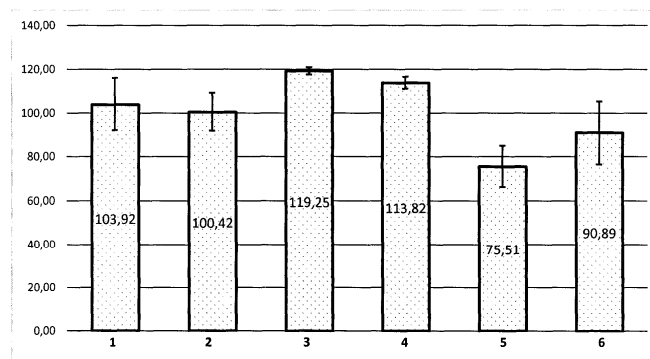
16. Способ по любому из пп.4, 5, 12-15, где вспомогательные ингредиенты выбраны из группы, состоящей из загустителей, регуляторов кислотности, консервантов, носителей, подсластителей, красителей и ароматизаторов.

17. Препарат витамина D3, полученный способом по любому из пп.1-16 и характеризующийся тем, что препарат сохраняет стабильность эмульсии в течение по меньшей мере 14 месяцев.

18. Препарат по п.17, который имеет форму спрея или аэрозоля.



Фиг. 1



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2