

УДК 615.22'012



ОПТИМИЗАЦИЯ СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ НАНОКАПСУЛ, РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ВКЛЮЧЕНИЯ ЦИННАРИЗИНА В ПРОЛОНГИРОВАННУЮ ЛЕКАРСТВЕННУЮ ФОРМУ НА ОСНОВЕ ПОЛИ-D,L-ЛАКТИД-КО-ГЛИКОЛИДА И ЕЕ ВАЛИДАЦИЯ

М.В. Сорокоумова, Н.В. Благоразумная, В.А. Компанцев, Л.И. Щербакова, Н.С. Зяблицева, Ю.Г. Медвецкая, Т.М. Васина, К.А. Мирошниченко

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России 357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11.

E-mail: mariya_026@mail.ru

Получено 26.01.2019

Рецензия 1 29.03.2019

Рецензия 2 15.05.2019

Принята к печати 10.06.2019

Распространенными патологиями сердечно-сосудистой системы являются цереброваскулярные расстройства, для лечения которых назначают препарат циннаризин. Разработана инновационная пролонгированная лекарственная форма в виде нанокапсул на основе поли-D,L-лактид-ко-гликолид (PLGA).

Целью исследования явилось совершенствование технологии и разработка методики определения уровня включения циннаризина в нанокапсулы. Исследовательская проблема заключалась в наличии множества особенностей инкапсулирования препарата, а также различных физико-химических свойств веществ, которые невозможно учесть в имеющихся методиках определения.

Материалы и методы. В ходе исследования были использованы субстанция циннаризина, PLGA (50:50), поливиниловый спирт (ПВС). Остальные реактивы и растворители соответствовали категории х.ч. Для разработки методики количественного определения циннаризина и ее валидации, использован спектрофотометрический метод анализа. Были приготовлены модельные смеси, которые использовались как объекты исследования. Валидационную оценку методики проводили по таким показателям, как специфичность, линейность, предел обнаружения, повторяемость, воспроизводимость.

Результаты. Разработана методика спектрофотометрического определения степени включения циннаризина. Установлено, что инкапсуляция составляет 63,74%. Осуществлено валидационное тестирование методики. Результаты таких испытаний, как специфичность, линейность, предел обнаружения, повторяемость, воспроизводимость соответствуют допустимому интервалу значений, регламентированных нормативной документацией. Скорректирована технология получения нанокапсул, в связи с невозможностью определения степени включения циннаризина при использовании стандартной методики получения.

Заключение. Оптимизирована технология и разработана методика, позволяющая провести достоверный анализ степени включения циннаризина в нанокапсулы, с учетом особенностей производства и физико-химических свойств компонентов. Относительная погрешность разработанной методики определения не превышает $\pm 2,67\%$. Исходя из результатов валидационной оценки, по всем показателям методика валидна.

Ключевые слова: циннаризин, поли-D,L-лактид-ко-гликолид, микрочастицы, степень включения, УФ-спектрометрия

Для цитирования: М.В. Сорокоумова, Н.В. Благоразумная, В.А. Компанцев, Л.И. Щербакова, Н.С. Зяблицева, Ю.Г. Медвецкая, Т.М. Васина, К.А. Мирошниченко. Оптимизация способа получения нанокапсул, разработка методики определения степени включения циннаризина в пролонгированную лекарственную форму на основе поли-d,l-лактид-ко-гликолида и ее валидация. *Фармация и фармакология*. 2019;7(3): 138-147. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-3-138-147

© М.В. Сорокоумова, Н.В. Благоразумная, В.А. Компанцев, Л.И. Щербакова, Н.С. Зяблицева, Ю.Г. Медвецкая, Т.М. Васина, К.А. Мирошниченко, 2019

For citation: M.V. Sorokoumova, N.V. Blagorazumnaya, V.A. Kompantsev, L.I. Shcherbakova, N.S. Zyablitseva, Y.G. Medvetskaya, T.M. Vasina, K.A. Miroshnichenko. Optimization of the method for obtaining nanocapsules, development of the methods of determining the degree of cinnarizine inclusion in a prolonged dosage form based on poly-d, l-lactid-co-glicolide, and its validation. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(3): 138-147. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-3-138-147

OPTIMIZATION OF THE METHOD FOR OBTAINING NANOCAPSULES, DEVELOPMENT OF THE METHODS OF DETERMINING THE DEGREE OF CINNARIZINE INCLUSION IN A PROLONGED DOSAGE FORM BASED ON POLY-D, L-LACTID-CO-GLICOLIDE, AND ITS VALIDATION

Maria V. Sorokoumova, Natal'ya V. Blagorazumnaya, Vladislav A. Kompantsev, Larisa I. Shcherbakova, Nadezhda S. Zyablitseva, Yulia G. Medvetskaya, Tatiana M. Vasina, Kirill A. Miroshnichenko

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University
11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: mariya_026@mail.ru

Received 26.01.2019

Review 1 29.03.2019

Review 2 15.05.2019

Accepted for publication: 10.06.2019

Common pathologies of the cardiovascular system are cerebrovascular disorders, for which cinnarizine is prescribed. An innovative, prolonged nanocapsule dosage form based on poly-D, L-lactide-co-glycolide (PLGA) has been developed.

The aim of the research was improvement of the technology and development of the methods for determining the level of cinnarizine inclusion in nanocapsules. The research problem consisted of a great number of drug encapsulation peculiarities, as well as various physicochemical properties of the substances that cannot be taken into account in the existing methods of determination.

Materials and methods. In the study, the following substances were used: cinnarizine, PLGA (50:50), polyvinyl alcohol (PVA). The remaining reagents and solvents fitted into the category of chemically pure. For development of the methods for quantitative determination of cinnarizine and its validation, a spectrophotometric method of analysis was used. Model mixtures used as objects of the study, had been prepared. Validation assessment of the methods was carried out upon such indicators as specificity, linearity, detection limit, repeatability, reproducibility.

Results. Methods for spectrophotometric determination of the degree of cinnarizine inclusion has been developed. It has been established that encapsulation reaches 63.74%. Validation testing methods has been carried out. The results of such tests as specificity, linearity, detection limit, repeatability, reproducibility correspond to the safe range of values regulated by Product specification file. Due to the impossibility of determining the degree of cinnarizine inclusion on the basis of standard methods of preparation, the technology of producing nanocapsules has been adjusted.

Conclusion. The technology has been optimized and new techniques have been developed. Taking into account the characteristics of production and the physicochemical properties of the components, they make a reliable analysis of the degree of cinnarizine inclusion in nanocapsules possible. The relative error of the developed methods of determination does not exceed $\pm 2.67\%$. Based on the results of the validation assessment, this methods is valid for all indicators.

Keywords: cinnarizine, poly-D,L-lactide-co-glycolide, microparticles, degree of incorporation, UV spectrometry

ВВЕДЕНИЕ

При цереброваскулярных расстройствах отмечается прогрессирующее повреждение нейронов с последующим их апоптозом вследствие метаболических нарушений, недостатка питательных веществ и кислорода. Это геморрагический и ишемический инсульт, энцефалопатия, мигрень, деменция, нарушение когнитивных функций. Одним из ведущих патогенетических факторов развития данных расстройств является изменение свойств церебральных сосудов, под воздействием таких факторов, как атеросклероз, артериальная гипертензия, приводящих к нарушению мозгового кровообращения [1–4]. Основной группой лекарственных препаратов, назначаемых при данной патологии, являются блокаторы кальциевых каналов, в частности циннаризин, эффективность которого доказана многочисленными клиническими исследованиями [5]. Существующие лекарственные формы цин-

наризина имеют ряд недостатков, а именно: частота приема, наличие побочных эффектов [6, 7]. Решением по нивелированию данных нежелательных факторов является разработка пролонгированной формы циннаризина, позволяющей уменьшить частоту приемов и тем самым избежать резких изменений концентрации препарата в организме, то есть способной поддерживать концентрацию препарата в организме относительно постоянной и терапевтической эффективной. Современные фармацевтические технологии позволяют создавать пролонгированные лекарственные формы нано- и микро размеров с контролируемым высвобождением активных субстанций на основе полимерных носителей при помощи метода инкапсулирования [8, 9]. Одним из перспективных полимеров является сополимер молочной и гликолевой кислот (50:50) – поли-D,L-лактид-ко-гликолид (PLGA). Нанокapsулы на основе данного биополимера обеспечивают высокий

уровень сорбции, пролонгируемое и программируемое высвобождение препаратов. Также полимер является биосовместимым и биodeградируемым, в организме метаболизируется до эндогенных соединений – молочной кислоты (разлагается до углекислого газа и воды) и гликолевой кислоты (выводится в неизменном виде). Разработана инновационная пролонгированная лекарственная форма циннаризина в виде микро- и нанокапсула на основе биodeградируемого полимера PLGA, предположительно способная нивелировать побочные эффекты препарата.

ЦЕЛЬ исследования – корректировка стандартной технологии, разработка и валидация методики определения степени включения циннаризина в полученные микрочастицы, с учётом особенностей инкапсулирования и физико-химических свойств соединений, используемых при производстве.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данном исследовании была использована субстанция циннаризина, PLGA (50:50), ПВС. Остальные реактивы и растворители соответствовали марке х.ч.

1. Методика определения степени включения циннаризина в нанокапсулы

Методика 1

Объектом исследования послужил водный раствор супернатанта, получаемый после центрифугирования [10–14]. Супернатант помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки водой очищенной (раствор А). Учитывая растворимость циннаризина в спирте этиловом и данные литературы по определению степени включения лекарственных веществ в микрокапсулах на основе PLGA, была предложена следующая методика. Степень включения циннаризина устанавливали спектрофотометрически [15–21]. Для этого определяли содержание свободного циннаризина, а затем содержание циннаризина включенного в микрочастицы. Из раствора А отбирали аликвоту объемом 0,4 мл и помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили до метки спиртом этиловым 95% [22–24].

Методика 2

Из раствора А отбирали аликвоту, объемом 20 мл, помещали в делительную воронку, добавляли 5 мл хлороформа и экстрагировали. Спектр хлороформного извлечения измеряли в интервале 220–360 нм на спектрофотометре СФ-56 в кюветках с толщиной слоя 1 см, в качестве раствора сравнения использовали хлороформ. Предварительно измеряли спектр стандартного образца циннаризина в хлороформе. Полноту извлечения циннаризина из раствора А контролировали повторным прибавлением 5 мл хлороформа к водному раствору, полученному после первого экстрагирования. Спектр второго хлороформного извлечения измеряли в интервале 220–360 нм на спектрофотометре

СФ-56 в кюветках с толщиной слоя 1 см, в качестве раствора сравнения использовали хлороформ.

Методика 3

В данном случае объектом исследования служил раствор супернатанта в хлористоводородной кислоте. Весь объем переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили до метки 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной. Предварительно был измерен спектр стандартного образца циннаризина в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной, наблюдали максимум поглощения $A=0,576$ при длине волны 253 нм.

Оценку степени включения циннаризина в нанокапсулы проводили, измеряя спектр поглощения в области 220–360 нм на спектрофотометре СФ-56 в кюветках с толщиной слоя 1 см, в качестве раствора сравнения использовали раствор кислоты хлористоводородной 0,1 М.

2. Оптимизация способа получения нанокапсул

Из литературных данных известно, что циннарин растворим в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной, соответственно было проведено исследование на растворимость PLGA в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной.

Навеску PLGA помещали в 50 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной. При перемешивании в течение трех часов полимер не растворился, в связи с чем, было предложено изменить стандартную технологию нанокапсул.

Стандартная технология нанокапсул

Для получения микрочастиц циннаризина на основе PLGA был использован метод соосаждения. Точные навески циннаризина и PLGA растворяют в небольшом объеме хлороформа, а затем по каплям вводят в водный раствор ПВС, при гомогенизации с помощью аппарата Ultra-Turrax T-18 (IKA, ФРГ). Полученный раствор, содержащий микрочастицы, центрифугируют при скорости вращения 10000 об/мин в течение 20 минут. Надмикрокапсульную жидкость – супернатант декантируют.

Скорректированная технология нанокапсул

Точные навески циннаризина и PLGA растворяют в небольшом объеме хлороформа, а затем по каплям вводят в 0,1 М хлористоводородный раствор ПВС, при гомогенизации с помощью аппарата Ultra-Turrax T-18 (IKA, ФРГ). Полученный раствор, содержащий микрочастицы, центрифугируют при скорости вращения 10000 об/мин в течение 20 минут. Надмикрокапсульную жидкость – супернатант декантируют.

3. Методика количественного определения циннаризина в нанокапсулы и ее валидация

3.1. Количественное определение

На основе данных, полученных при определении

уровня включения циннаризина в нанокapsулы, для количественного анализа были выбраны условия, соответствующие методике №3.

Измерения проводились при комнатной температуре шестикратно, данные усреднялись.

Расчет содержания циннаризина в супернатанте производили по формуле 1:

$$X = \frac{A_x \times C_{cm} \times W_1 \times W_2}{A_{cm} \times a \times V_a} \quad (1),$$

где

A_x – оптическая плотность супернатанта;

C_{cm} – концентрация СО циннаризина, г/мл;

W_1, W_2 – объем мерных колб, мл;

A_{cm} – оптическая плотность СО циннаризина;

a – навеска циннаризина, г;

V_a – объем аликвоты, мл.

3.2. Валидация методики количественного определения циннаризина в нанокapsулы

Осуществлена валидационная оценка разработанной методики количественного определения циннаризина в микрокапсулах.

Разработанную методику оценивают по следующим показателям: специфичность, линейность, предел обнаружения, повторяемость, воспроизводимость.

Определение специфичности

При испытании на специфичность методики определяют влияние растворителя и вспомогательных веществ на оптическую плотность раствора модельной смеси.

В качестве растворителя используют 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты. Готовят два раствора: первый – раствор модельной смеси микрокапсул с циннаризином, второй – растворитель и вспомогательные вещества.

Определение линейности методики

Определение линейности методики количественного анализа циннаризина осуществляют спектрофотометрическим методом. Для этого проводят 6 параллельных определений в навесках модельной смеси микрокапсул.

Приготовление модельных смесей

Навески микрокапсул циннаризина равные соответственно 0,01 г, 0,02 г, 0,03 г, 0,04 г, 0,05 г и 0,06 г помещают в мерные колбы вместимостью 100 мл, растворяют в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, доводят тем же растворителем до метки, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре СФ-56 в максимуме поглощения при длине волны 253 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Определение предела обнаружения

При определении предела обнаружения готовят модельную смесь: 0,03 г микрокапсул циннаризина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 0,1М растворе хлористоводородной кислоты и доводят до метки тем же растворителем (раствор А).

Из раствора А готовили модельные растворы с концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл, $1 \cdot 10^{-4}$ г/мл, $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл циннаризина. Определение начинали с раствора с наибольшей концентрацией, устанавливая концентрацию, при которой будет отсутствовать максимум поглощения циннаризина при длине волны 253 нм.

Определение сходимости

Сходимость характеризуется, такими показателями, как повторяемость и воспроизводимость методики.

Для определения использовали спектрофотометрический метод анализа, в диапазоне длин волн 220–360 нм.

Повторяемость исследуют на образце модельной смеси микрокапсул циннаризина в 10 повторностях.

Воспроизводимость методики оценивают на пяти образцах модельных смесей в двух повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Используя методику определения № 1, было установлено, что при добавлении спирта этилового в водный раствор супернатанта наблюдается образование белой опалесценции и помутнение. Причиной этих явлений является взаимодействие ПВС со спиртом этиловым, в связи с чем, данную методику невозможно использовать для спектрофотометрического определения степени включения циннаризина.

Используя методику № 2, в супернатанте было определено количественное содержание циннаризина в размере 1% от введенной навески циннаризина, что подтверждается растворимостью циннаризина в воде [25].

Исходя из полученных результатов, было предложено изменить стандартную технологию микрокапсул путем использования хлористоводородного раствора ПВС, взамен водного раствора, что позволит перевести невключившийся циннаризин в раствор, с последующим определением степени включения [26, 27].

Применение методики №3, позволило определить количественное содержание циннаризина в хлористоводородном растворе супернатанта. Соответственно по разности концентраций представляется возможным вычислить степень инкапсуляции препарата в микрокапсулы.

Произведя серию определений, получены следующие данные.

На рисунке 1 представлен УФ-спектр поглощения раствора супернатанта, полученного по скорректиро-

ванной технологии. Данный УФ-спектр поглощения совпадает с результатами предыдущих исследований.

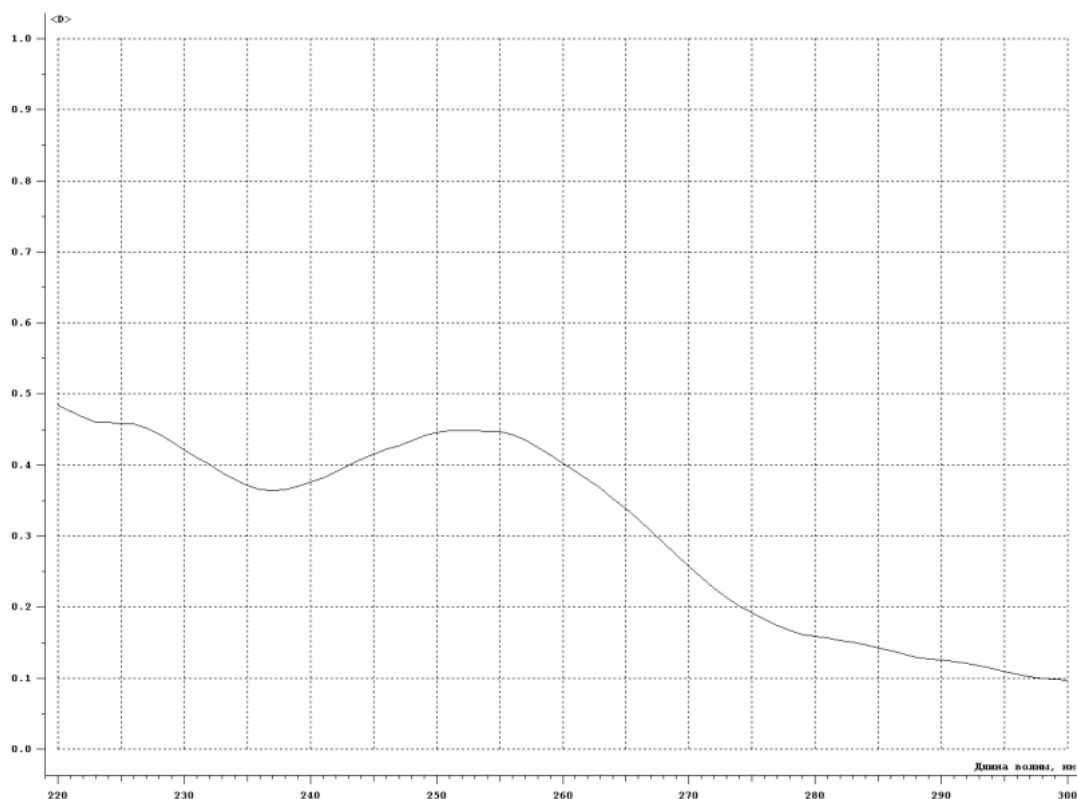


Рисунок 1 – УФ-спектр супернатанта.

Исходя из результатов исследования, усредненная оптическая плотность при длине волны 253 нм составила 0,447.

Содержание циннаризина в супернатанте рассчитывали по формуле 1.

$$X = \frac{0,447 \cdot 0,001 \cdot 50 \cdot 10}{0,576 \cdot 0,0107 \cdot 1} = 36,26\%$$

По разности вычисляют степень включения циннаризина:

$$100\% - x = 100 - 36,26 = 63,74\% \text{ (таб. 1)}$$

Таблица 1 – Данные о степени инкапсулирования

Образец №	Оптическая плотность раствора	Количество несвязанного циннаризина, %	Количество связанного циннаризина, %	Метрологические данные
1	0,425	34,48	65,52	S=1,62 Sx=0,6635 ε = ±2,67
2	0,482	39,10	60,90	
3	0,447	36,26	63,74	
4	0,450	36,51	63,49	
5	0,430	34,88	65,12	
6	0,448	36,34	63,66	
\bar{X}	0,447	36,26	63,74	

Валидационная оценка методики Определение специфичности

Полученные растворы анализировали спектрофотометрическим методом. На рисунке 2 представлен УФ-спектр модельной смеси микрочастиц с циннаризином, как видно, в области 230–270 нм на-

блюдается максимум поглощения характерный для препарата. На рисунке 3 приведен спектр поглощения второго раствора, состоящего из растворителя и вспомогательных веществ. Наглядно представлено, что поглощение в области 230–270 нм практически отсутствует.

Исходя из полученных данных определения, можно судить о специфичности разработанной методики [28].

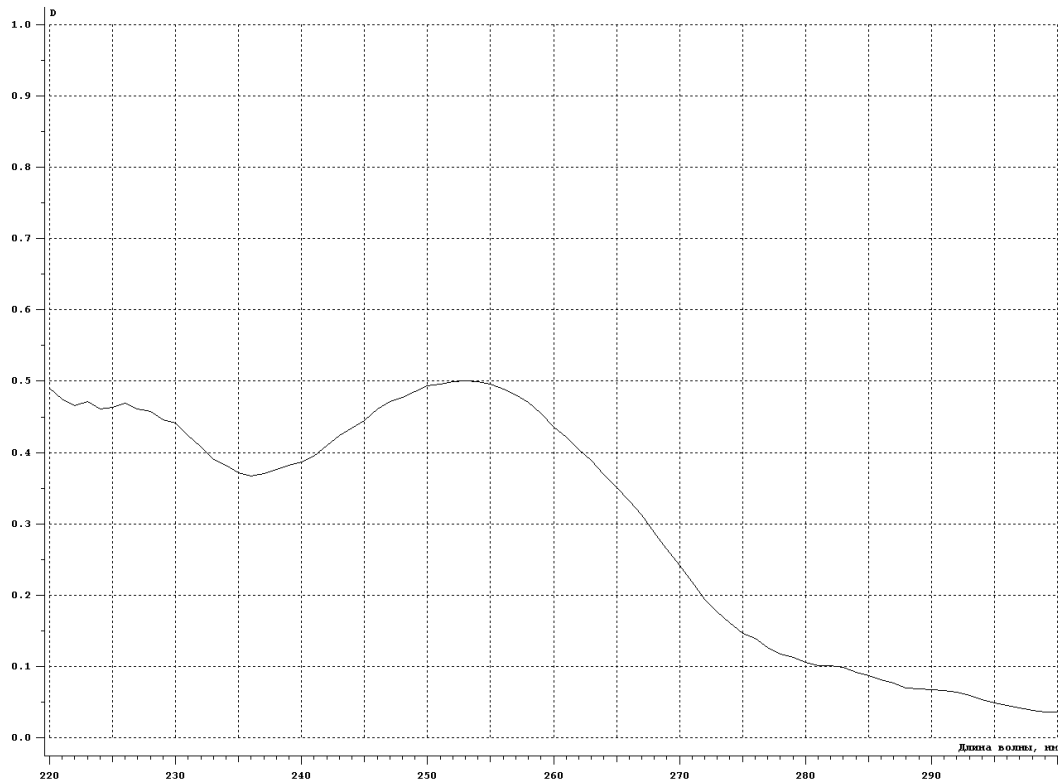


Рисунок 2 – Уф-спектр модельной смеси микрочастиц

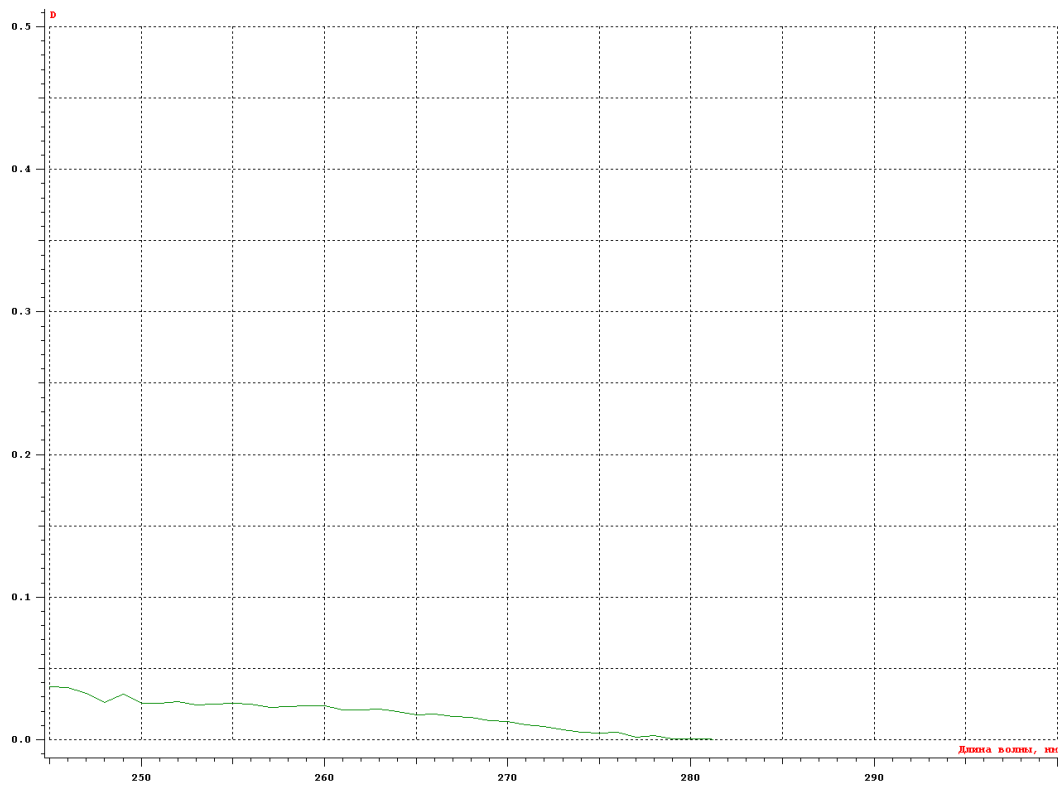


Рисунок 3 – Уф-спектр растворителя с вспомогательными веществами

Определение линейности методики

По результатам испытаний был построен градуировочный график зависимости значения оптической плотности от навески модельной смеси и рассчитано уравнение градуировочного графика и

коэффициент корреляции. График представлен на рисунке 4.

Показатель линейности характеризуется коэффициентом корреляции, его значение составило 0,998875, что соответствует требованию не ниже 0,995.

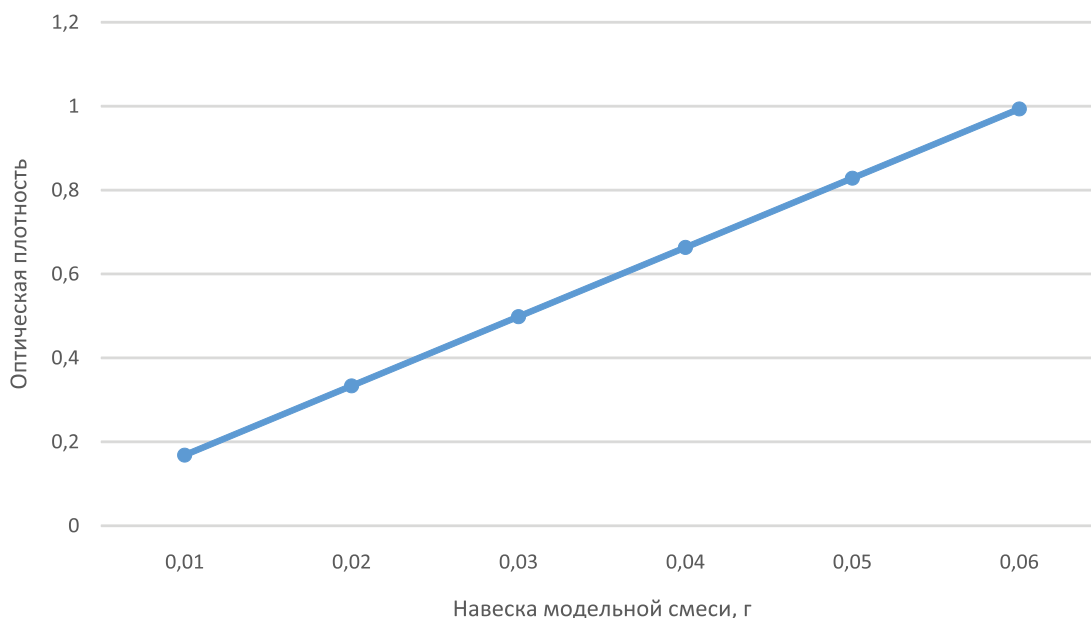


Рисунок 4 – Градуировочный график зависимости значения оптической плотности циннаризина от навески модельной смеси микрочастиц

Градуировочный график подчиняется линейной зависимости. Показатель коэффициента корреляции соответствует установленным требованиям НД [28]. Следовательно, можно утверждать, что линейная зависимость наблюдается в области концентраций циннаризина, во взятой навески модельной смеси микрочастиц 0,000345–0,002%.

Определение предела обнаружения

Данные, полученные в ходе исследования, отражены в таблице 2. Разработанная методика позволяет определить предел обнаружения, концентрацию, при которой не будет наблюдаться характерное поглощение для циннаризина при длине волны 253 нм. Установлен предел обнаружения циннаризина в микрочастицах, который составил $1 \cdot 10^{-4}$ г/мл.

Таблица 2 – Данные о пределе обнаружения

Концентрация циннаризина в растворе, г/мл	Оптическая плотность раствора
$1 \cdot 10^{-3}$	0,498
$1 \cdot 10^{-4}$	0,0508
$1 \cdot 10^{-5}$	0,0048

Определение сходимости

Сходимость характеризуется такими показателями, как повторяемость и воспроизводимость методики.

Повторяемость оценивают по показателю -коэффициент вариации, его значение по требованию НД

не должно превышать 2,0% [28]. Данные о повторяемости методики приведены в таблице 3.

Установленный коэффициент вариации составил 1,4%, что входит в область допустимых значений.

Результаты тестирования по показателю воспроизводимость методики представлены в таблице 4.

Таблица 3 – Данные о повторяемости методики

№ измерения	Оптическая плотность
1	0,498
2	0,505
3	0,504
4	0,497
5	0,496
6	0,507
7	0,503
8	0,500
9	0,494
10	0,496
Среднее значение	0,500
Степень вариации, %	1,4

Установленный коэффициент вариации составил 1,4%, что входит в область допустимых значений.

Результаты тестирования по показателю воспроизводимости методики представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Данные о воспроизводимости методики

№ образца	Первая серия измерений				
	1	2	3	4	5
Исследователь № 1	0,502	0,500	0,503	0,498	0,496
Исследователь № 2	0,504	0,503	0,505	0,499	0,502
№ образца	Вторая серия измерений				
	1	2	3	4	5
Исследователь № 1	0,506	0,507	0,500	0,503	0,501
Исследователь № 2	0,504	0,507	0,507	0,501	0,503

Показателем приемлемости выступал коэффициент вариации, его значение, согласно требованиям НД, не должно превышать 3% [28]. Для 10 параллельных измерений в двух сериях он составил 0,60%, что не выходит за пределы допустимого показателя критерия приемлемости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований была скорректирована стандартная технология микрочастиц на основе биodeградируемого полимера ПЛГА, путем использова-

ния в качестве растворителя 0,1М раствор хлористоводородной кислоты. Разработана методика определения степени включения циннаризина в микрокапсулы методом УФ-спектрофотометрии. Содержание циннаризина в микрокапсулах составило 63,7% от введенной навески циннаризина. Относительная погрешность не превышает $\pm 2,67\%$. Произведена валидация разработанной методики по показателям: специфичность, линейность, предел обнаружения, повторяемость, воспроизводимость. По результатам тестирования получены данные, по которым можно судить о валидности методики.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Щукин И.А., Лебедева А.В., Бурд С.Г., Фидлер М.С., Шихкеримов Р.К., Исмаилов А.М., Болотов А.В., Бельгушева М.Х. Хронические цереброваскулярные заболевания: вопросы диагностики и лечения // Consilium Medicum. – 2016. – №2. – С. 85–94.
2. Smith E.E., Saposnik G., Biessels G.J., Doubal F.N., Fornage M., Gorelick P.B., Greenberg S.M., Higashida R.T., Kasner S.E., Seshadri S. American Heart Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Functional Genomics and Translational Biology; and Council on Hypertension. Prevention of Stroke in Patients With Silent Cerebrovascular Disease: A Scientific State-
- ment for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association // Stroke. – 2017. – Vol. 48, №2. – P. e44–e71. DOI: 10.1161/STR.000000000000116.
3. Thrift A.G., Howard G., Cadilhac D.A., Howard V., Rothwell P.M., Thayabaranathan T., Feigin V.L., Norrving B., Donnan G.A. Global stroke statistics: An update of mortality data from countries using a broad code of «cerebrovascular diseases» // International Journal of Stroke. – 2017. – Vol. 12, №8. – P. 796–801. DOI: 10.1177/1747493017730782.
4. Patel R.A.G., McMullen P.W. Neuroprotection in the Treatment of Acute Ischemic Stroke // Prog Cardiovasc Dis. – 2017. – Vol. 59, №6. – P. 542–548. DOI:10.1016/j.pcad.2017.04.005.

5. Ashrafi M.R., Salehi S., Malamiri R.A., Heidari M., Hosseini S.A., Samiei M., Tavasoli A.R., Togha M. Efficacy and safety of cinnarizine in the prophylaxis of migraine in children: a double-blind placebo-controlled randomized trial // *Pediatr Neurol.* – 2014. – Vol. 51, №4. – P. 503–8. DOI:10.1016/j.pediatrneurol.2014.05.031.
6. Сорокоумова М.В., Компанцев В.А., Щербакова Л.И., Мирошниченко К.А., Платонова А.Ю. Общая характеристика, применение в медицине, методы качественного и количественного анализа циннаризина // *Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация.* – 2017. – №4. – С. 135–140.
7. Raghuvanshi S., Pathak K. Recent Advances in Delivery Systems and Therapeutics of Cinnarizine: A Poorly Water Soluble Drug with Absorption Window in Stomach // *Journal of Drug Delivery.* – 2014., 2014:479246 DOI:10.1155/2014/479246.
8. Shahba A.A., Mohsin K., Alanazi F.K. Novel self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for oral delivery of cinnarizine: design, optimization, and in-vitro assessment. // *AAPS PharmSciTech.* – 2012. – Vol. 13. – P. 967–977. DOI:10.1208/s12249-012-9821
9. Nguyen T.H., Hanley T., Porter C.J., Boyd B.J. Nanostructured liquid crystalline particles provide long duration sustained-release effect for a poorly water soluble drug after oral administration // *Journal Control Release.* – 2011. – Vol. 153, №2. – P. 180–186. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.03.033.
10. Сорокоумова М.В., Компанцев В.А., Мирошниченко К.А. Разработка и исследование пролонгированного лекарственного средства циннаризина на основе поли-D,L-лактид-когликолида // *Евразийский союз ученых.* – 2017. – № 10–1(43). – С. 75–79.
11. Verma S., Nagpal K., Singh S.K., Mishra D.N. Unfolding type gastroretentive film of Cinnarizine based on ethyl cellulose and hydroxypropylmethyl cellulose // *International journal of biological macromolecules.* – 2014, Vol. 64. – P. 347–352. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2013.12.030
12. Shahba A.A., Ahmed A.R., Alanazi F.K., Mohsin K., Abdel-Rahman S.I. Multi-Layer Self-Nanoemulsifying Pellets Delivery System for the Poorly Water-Soluble Drug Cinnarizine // *AAPS PharmSciTech.* – 2018. – Vol. 19, №5 – P. 2087–2102. DOI: 10.1208/s12249-018-0990-7
13. Sassene P.J., Mosgaard M.D., Löbmann K., Mu H., Larsen F.H., Rades T., Müllertz A. Elucidating the Molecular Interactions Occurring during Drug Precipitation of Weak Bases from Lipid-Based Formulations: A Case Study with Cinnarizine and a Long Chain Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System // *Molecular Pharmaceutics* – 2015. – Vol. 12, №11. – P. 4067–4076. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00498.
14. Morrison J.S., Nophsker M.J., Haskell R.J. A combination turbidity and supernatant microplate assay to rank-order the supersaturation limits of early drug candidates // *Journal of pharmaceutical sciences.* – 2014. – Vol. 103, №10 – P. 3022–3032. DOI:10.1002/jps.24090.
15. Ammar H.O., Ghorab M., Kamel R., Salama A.H. Design and optimization of gastro-retentive microballoons for enhanced bioavailability of cinnarizine // *Drug Delivery and Translational Research.* – 2016. – Vol. 6, №3. – P. 210–224. DOI:1007/s13346-016-0280-4.
16. Haress N.G. Cinnarizine: Comprehensive Profile // *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol.* – 2015. – Vol. 40. – P. 1–41. DOI: 10.1016/bs.podrm.2015.01.001
17. Ciftci Z., Deniz M., Yilmaz I., Ciftci H.G., Sirin D.Y., Gultekin E. In vitro analysis of a novel controlled release system designed for intratympanic administration of N-acetylcysteine: a preliminary report // *Am J Otolaryngol.* – 2015. – Vol. 36, № 6. – P. 786–793. DOI: 10.1016/j.amjoto.2015.08.004.
18. Портнова С.В., Мцаришвили М.Р. Валидация методики количественного определения циннаризина в смывах // *Вестник казанского технологического университета.* – 2016. – Т. 19. – №12. – С. 75–78.
19. Morrison J., Nophsker M., Elzinga P., Donoso M., Park H., Haskell R. A polychromatic turbidity microplate assay to distinguish discovery stage drug molecules with beneficial precipitation properties // *Int J Pharm.* – 2017. – Vol. 531, №1. – P. 24–34. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.07.086.
20. Abdelrahman M.M. Simultaneous determination of Cinnarizine and Domperidone by area under curve and dual wavelength spectrophotometric methods // *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* – 2013. – Vol. 113. – P. 291–296. DOI: 10.1016/j.saa.2013.04.120.
21. Choudhari V.P., Ingale S., Gite S.R., Tajane D.D., Modak V.G., Ambekar A. Spectrophotometric simultaneous determination of Tenofovir disoproxil fumarate and Emtricitabine in combined tablet dosage form by ratio derivative, first order derivative and absorbance corrected methods and its application to dissolution study // *Pharm Methods.* – 2011; Vol. 2, №1 – P. 47–52. DOI:10.4103/2229-4708.81096
22. Lamie N.T. Comparative study of spectrophotometric methods manipulating ratio spectra: an application on pharmaceutical binary mixture of cinnarizine and dimenhydrinate. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* – 2015 – Vol. 141. – P. 193–201. DOI: 10.1016/j.saa.2015.01.033.
23. Благоразумная Е.Ю., Дуккардт Л.Н., Благоразумная Н.В. Качественный и количественный анализ триметилоктадецил аммония бромида в лекарственном средстве бактерицид // *Известия вузов.*

- Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2006. – № S23. – С. 60–61.
24. Береговых В.В., Пятигорская Н.В., Беляев В.В., Аладышева Ж.И., Мешковский А.П. Валидация в производстве лекарственных средств/ Учебное пособие. – М.: Издательский дом Русский Врач, 2010. – 286 с. <https://www.twirpx.com/file/1570313/>
25. Mishra V., Sahoo J., Prasanna K.D. Enhanced bioavailability of cinnarizine nanosuspensions by particle size engineering: Optimization and physicochemical investigations // Materials Science and Engineering: – 2016. – Vol. 63. – P. 62–69. DOI: 10.1016/j.msec.2016.02.046.
26. Чмелевская Н.В., Илларионова Е.А. Аналитический контроль однородности дозирования таблеток циннаризина // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – №3. – С. 50–52.
27. Илларионова Е.А., Чмелевская Н.В., Муравьева Г.М. Разработка методик обнаружения пикамилаона и циннаризина в комбинированных сочетаниях с психотропными лекарственными средствами. // Сибирский медицинский журнал. – 2015. – №4. – С. 68–71.
28. Общая фармакопейная статья ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». – ГФ XIV. – М., 2018.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

АВТОРЫ

Сорокоумова Мария Викторовна – аспирант кафедры неорганической, физической и коллоидной химии, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Россия. ORCID ID0000-0003-0590-8256. E-mail: mariya_026@mail.ru

Благоразумная Наталья Васильевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и токсикологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Россия. ORCID ID0000-0002-9302-097X. E-mail: nataliyva@rambler.ru

Компанцев Владислав Алексеевич – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры неорганической, физической и коллоидной химии, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Россия. ORCID ID0000-0001-9560-5288. E-mail: l.i.sherbakova@pmedpharm.ru

Щербаклова Лариса Ивановна – кандидат фармацевтических наук, доцент, зав. кафедрой Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Россия. ORCID ID0000-0002-7806-2805. E-mail: l.i.sherbakova@pmedpharm.ru

Зяблицева Надежда Сергеевна – кандидат фармацевтических наук, доцент преподаватель кафедры неорганической, физической и коллоидной химии, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Россия. ORCIDID 0000-0001-6007-1204. E-mail: n.s.zyablitseva@yandex.ru

Медвецкая Юлия Георгиевна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры неорганической, физической и коллоидной химии, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Россия.

Васина Татьяна Михайловна – кандидат фармацевтических наук, доцент преподаватель кафедры неорганической, физической и коллоидной химии, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Россия. ORCID ID0000-0001-6816-3883. E-mail: tatyana.vasina.5959@mail.ru

Мирошниченко Кирилл Александрович – студент 5 курса Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, г. Пятигорск. ORCID ID0000-0002-9811-1678. E-mail: k220436@yandex.ru