



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 35/741 (2018.08); A61K 9/2086 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2017102952, 29.06.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.06.2015

Дата регистрации:
20.11.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
01.07.2014 US 62/019,717

(43) Дата публикации заявки: 01.08.2018 Бюл. № 22

(45) Опубликовано: 20.11.2020 Бюл. № 32

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 01.02.2017

(86) Заявка РСТ:
US 2015/038254 (29.06.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/003870 (07.01.2016)

Адрес для переписки:
109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент"

(72) Автор(ы):

ГЭМБЛ Тимоти (US),
БЛЭНЧ Энтони (US)

(73) Патентообладатель(и):

ПРОБИ ЮЭсЭй, ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 8540980 B2, 24.09.2013. WO
2010008879 A2, 21.01.2010. EP 0742712 A,
20.11.1996. JP 60-037953, 27.02.1985.

(54) ДВУХСЛОЙНЫЕ ТАБЛЕТКИ, СОДЕРЖАЩИЕ ПРОБИОТИКИ, С ДВОЙНЫМ
ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к многослойной лекарственной форме для целевой доставки пробиотиков и способу её получения. Многослойная лекарственная форма для целевой доставки пробиотиков включает первый слой и второй слой, причем каждый слой содержит один или более различных пробиотиков совместно с одним или более вспомогательных компонентов состава, где слои делят один или более одинаковых вспомогательных компонентов состава, где состав представлен в виде

прессованной двухслойной таблеточной лекарственной формы или прессованной двухслойной лекарственной формы в виде каплет, и причем каждый из первого и второго слоев образует отдельную сторону лекарственной формы. Способ получения лекарственной формы включает стадию приготовления составов, содержащих различные пробиотики в каждом из первого слоя и второго слоя, стадию прессования первого слоя и второго слоя и стадию получения прессованной двухслойной лекарственной формы в виде таблетки или прессованной двухслойной

лекарственной формы в виде капли. Вышеуказанная многослойная лекарственная форма, полученная вышеуказанным способом, позволяет сделать регулируемый профиль

высвобождения пробиотиков, доставляя разные пробиотики в разные отделы желудочно-кишечного тракта. 2 н. и 12 з.п. ф-лы, 10 ил., 12 табл., 12 пр.

R U 2 7 3 6 8 2 3 C 2

R U 2 7 3 6 8 2 3 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 35/741 (2018.08); *A61K 9/2086* (2018.08)(21)(22) Application: **2017102952, 29.06.2015**(24) Effective date for property rights:
29.06.2015Registration date:
20.11.2020

Priority:

(30) Convention priority:
01.07.2014 US 62/019,717(43) Application published: **01.08.2018 Bull. № 22**(45) Date of publication: **20.11.2020 Bull. № 32**(85) Commencement of national phase: **01.02.2017**(86) PCT application:
US 2015/038254 (29.06.2015)(87) PCT publication:
WO 2016/003870 (07.01.2016)Mail address:
109012, Moskva, ul. Ilinka, 5/2, OOO "Soyuzpatent"

(72) Inventor(s):

**GAMBLE, Timothy (US),
BLANCH, Anthony (US)**

(73) Proprietor(s):

PROBI USA, INC. (US)(54) **DOUBLE-LAYER TABLETS CONTAINING PROBIOTICS, WITH DOUBLE RELEASE**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceutical industry.

SUBSTANCE: invention relates to a multilayer dosage form for targeted delivery of probiotics and a method for production thereof. Multilayer dosage form for targeted probiotic delivery comprises a first layer and a second layer, wherein each layer contains one or more different probiotics together with one or more auxiliary components of the composition, wherein the layers separate one or more similar auxiliary components of the composition, where the composition is presented in the form of a compressed two-layer tablet dosage form or compressed double-layer dosage form in the form of a caplet, and wherein each of the first

and second layers forms a separate side of the dosage form. Method for preparing the dosage form includes a step for preparing compositions containing different probiotics in each of the first layer and the second layer, a step for pressing the first layer and the second layer and a step for preparing a compressed two-layer dosage form in the form of a tablet or a compressed two-layer dosage form in the form of a caplet.

EFFECT: said multilayer dosage form produced by said method enables to make a controlled release profile of probiotics, delivering various probiotics in different parts of gastrointestinal tract.

14 cl, 10 dwg, 12 tbl, 12 ex

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение в общем относится к пищевым добавкам и фармацевтическим составам, включающим многослойные и двухслойные кислотозащитные дозированные составы для перорального применения, содержащие пробиотики и представленные в виде отдельных объединенных или связанных единиц дозирования. Каждый индивидуальный кислотозащитный слой связанной лекарственной формы обеспечивает некоторое количество одного из различных пробиотиков, особый профиль высвобождения для целевой доставки пробиотика в конкретную область желудочно-кишечного тракта или обеспечивает и некоторое количество различных пробиотиков, и профили высвобождения для целевой доставки различных пробиотиков в конкретные области желудочно-кишечного тракта.

Уровень техники

Традиционные лекарственные формы, содержащие пробиотики, характеризуются одним режимом или скоростью высвобождения пробиотической массы, которая в них содержится.

Различные составы, содержащие пробиотики, и способы получения таких составов известны специалистам в данной области техники. Например, однородные составы с контролируемым высвобождением, содержащие пробиотики, описаны в патентах США № 8540980; 8007777; 7150623 и 6627220. Содержание этих патентов конкретно указано и включено в данное описание посредством этой ссылки. В частности, патенты США № 8540980 и 8007777 относятся к различным предварительным порошковым смесям пробиотиков, используемым для приготовления различных однородных отдельных единиц дозирования, имеющих контролируемое или замедленное высвобождение.

Люди и животные, которые хотят получить пользу от пробиотических добавок различных микробов, которые находятся в различных областях желудочно-кишечного тракта, с использованием традиционных лекарственных форм, содержащих пробиотики, должны: (1) принимать несколько лекарственных форм, каждая предназначена для целевой доставки каждого конкретного типа микробов и для целевой области желудочно-кишечного тракта; или (2) принимать неэффективную или менее эффективную одну лекарственную форму, обеспечивающую равномерное высвобождение различных микробов. Таким образом, авторы изобретения определили, что в некоторых случаях однородные отдельные единицы дозирования, содержащие смесь или комбинацию различных пробиотиков, могут давать неэффективную или менее эффективную доставку пробиотической массы.

Однородные лекарственные формы, содержащие смешанную или объединенную гетерогенную массу пробиотиков, могут характеризоваться неэффективной доставкой, например, когда некоторые микробы, наиболее подходящие для доставки в верхние отделы желудочно-кишечного тракта, вместо этого полностью или частично доставляются в нижние отделы желудочно-кишечного тракта; а некоторые другие микробы, наиболее подходящие для доставки в нижние отделы желудочно-кишечного тракта могут быть доставлены полностью или частично в верхние отделы желудочно-кишечного тракта.

Существует необходимость в лекарственной форме, которая включает отдельные составы и обеспечивает высвобождение различных пробиотиков. Дополнительно, существует необходимость в отдельной связанной многослойной кислотозащитной единице дозирования, которая обеспечивает различные скорости высвобождения и целевую доставку пробиотиков, предназначенных для различных областей желудочно-кишечного тракта, таких как, например, верхние отделы желудочно-кишечного тракта

и нижние отделы желудочно-кишечного тракта.

Раскрытие изобретения

Авторы изобретения впервые разработали связанные кислотозащитные дозированные составы и лекарственные формы для перорального применения, содержащие различные пробиотики в различных слоях, причем слои имеют одинаковую или различные скорости высвобождения. Многослойные дозированные составы для перорального применения по данному изобретению могут осуществлять целевую доставку различных пробиотиков в различные области в желудочно-кишечном тракте, например, в верхние отделы желудочно-кишечного тракта, такие как ротовая полость, пищевод, желудок, двенадцатиперстная кишка, тонкая кишка и проксимальная подвздошная кишка, а также в нижние отделы желудочно-кишечного тракта, такие как дистальная подвздошная кишка, толстая кишка и анальное отверстие, для получения максимального эффекта.

Составы по настоящему изобретению можно использовать для осуществления быстрой, продленной, контролируемой, периодической, прерывистой и/или целевой доставки пробиотиков в различные области желудочно-кишечного тракта, таким образом высвобождая целевые пробиотики в течение короткого, длительного, прерывистого и/или непрерывного или продленного периода времени. Авторы настоящего изобретения впервые осуществили и сделали возможным объединение различных кислотозащитных предварительных порошковых смесей пробиотиков в различные слои, чтобы обеспечить совместную доставку различных пробиотических составов в отдельной объединенной или связанной кислотозащитной единице дозирования. Авторы настоящего изобретения также впервые осуществили и сделали возможным объединение различных кислотозащитных предварительных порошковых смесей пробиотиков в различные слои, чтобы обеспечить совместную доставку различных пробиотических составов, обладающих различными профилями высвобождения, в отдельной объединенной или связанной кислотозащитной единице дозирования.

Каждый слой кислотозащитного состава может содержать различные пробиотики или смесь пробиотиков, которые различаются на уровне одного или более родов, видов, подвидов и штаммов. Каждый слой может характеризоваться быстрым высвобождением или любым из различных степеней прерывистого, непрерывного, длительного или контролируемого высвобождения. Каждый слой может иметь свой размер или включать большую часть готовой лекарственной формы по сравнению с одним или более другими слоями. Авторы настоящего изобретения установили, что в единице дозирования связывание в многослойных или двухслойных кислотозащитных лекарственных формах, содержащих пробиотики, по настоящему изобретению предпочтительно оптимизируют путем включения подобных или одинаковых количеств одного или более подобных или одинаковых вспомогательных веществ в каждый слой лекарственной формы. Таким образом, в предпочтительных вариантах реализации настоящего изобретения некоторые компоненты составов общие для различных слоев составов.

Лекарственные формы по настоящему изобретению являются кислотозащитными, но каждый слой может характеризоваться различными степенями защиты от кислоты. Различные степени защиты от кислоты могут облегчать индивидуальное регулирование высвобождения из слоев для целевой доставки массы пробиотиков.

Предпочтительные варианты реализации настоящего изобретения не содержат энтеросолюбильного покрытия. Поскольку энтеросолюбильные покрытия не нужны для осуществления преимуществ настоящего изобретения, для лекарственных форм,

описанных в данном документе, устранены дополнительные сложности изготовления и расходы, связанные с включением таких энтеросолюбильных покрытий. Хотя составы по настоящему изобретению могут содержать энтеросолюбильные покрытия, но они не являются обязательными.

5 Составы по настоящему изобретению можно использовать для защиты пробиотиков от жесткой кислотной среды желудка.

Составы по настоящему изобретению можно получить в виде многослойных таблеток, или каплет, или подобных лекарственных форм, посредством прямого сжатия. Составы каждого слоя по настоящему изобретению могут содержать сыпучий порошковый материал или смесь до прессования. После окончательного прессования варианты реализации настоящего изобретения предпочтительно представляют собой отдельные многослойные связанные нерассыпчатые единицы дозирования, устойчивые к разделению слоев. Каждый слой состава по настоящему изобретению можно вначале прессовать отдельно или прессовать предварительно, а затем снова прессовать вместе с одним или более дополнительными слоями. В альтернативном варианте слои составов можно прессовать вместе в процессе однократного прессования. Давления прессования или сжатия можно изменять применительно к прессованию каждого из слоев и/или целого состава. Способы, описанные в данном документе, являются только примерами и не составляют исключительный список способов, которые можно использовать для осуществления изобретения.

Краткое описание фигур

Фиг. 1A, 1B, 1C и 1D иллюстрируют изображения, оценивающие замедленное высвобождение из двухслойных таблеток, полученных в соответствии с настоящим изобретением, через ноль, три, шесть или девять часов, соответственно, после воздействия кислоты (устройство типа 2, USP, pH 2,5 при 37°C с мешалкой, работающей при 50 об/мин) с последующим продолжением растворения в нейтральном растворе.

Фиг. 2 иллюстрирует влияние гидрофильных агентов на контролируемое высвобождение жизнеспособных полезных микроорганизмов в тонкий кишечник из состава, известного в данной области техники, который можно по-новому адаптировать и использовать для получения одной стороны двухслойной лекарственной формы.

Фиг. 3 иллюстрирует влияние добавления электролитов на контролируемое высвобождение жизнеспособных полезных микроорганизмов в тонкий кишечник из состава, известного в данной области техники, который можно по-новому адаптировать и использовать для получения одной стороны двухслойной лекарственной формы.

Фиг. 4 иллюстрирует влияние добавления pH- или фермент-чувствительных агентов на контролируемое высвобождение жизнеспособных полезных микроорганизмов в тонкий кишечник из состава, известного в данной области техники, который можно по-новому адаптировать и использовать для получения одной стороны двухслойной лекарственной формы.

Фиг. 5 иллюстрирует диапазон для контролируемого высвобождения жизнеспособных полезных микроорганизмов в течение длительного периода, из состава, известного в данной области техники, который можно по-новому адаптировать и использовать для получения одной стороны двухслойной лекарственной формы.

Фиг. 6 иллюстрирует контролируемое высвобождение полезных микроорганизмов, характерных для нижних отделов кишечника, в течение длительного периода, составляющего 12 часов, из состава, известного в данной области техники, который можно по-новому адаптировать и использовать для получения одной стороны двухслойной лекарственной формы.

Фиг. 7 иллюстрирует диапазон для регулирования геометрической масштабируемости, размера таблеток и изменения формы в настоящем изобретении, и влияние таких изменений на контролируемое высвобождение жизнеспособных полезных микроорганизмов в тонкий кишечник из состава, известного в данной области техники, который можно по-новому адаптировать и использовать для получения одной стороны двухслойной лекарственной формы.

Фиг. 8 иллюстрирует влияние высушивания агентов до таблетирования на контролируемое высвобождение жизнеспособных полезных микроорганизмов в тонкий кишечник из состава, известного в данной области техники, который можно по-новому адаптировать и использовать для получения одной стороны двухслойной лекарственной формы.

Фиг. 9 иллюстрирует влияние гидрофильной матрицы, в которой используются гидрофильные агенты с различными вязкостями, на контролируемое высвобождение жизнеспособных полезных микроорганизмов в тонкий кишечник из состава, известного в данной области техники, который можно по-новому адаптировать и использовать для получения одной стороны двухслойной лекарственной формы.

Фиг. 10 иллюстрирует влияние физиологически приемлемых электролитов на стабильность состава, известного в данной области техники, который можно по-новому адаптировать и использовать для получения одной стороны двухслойной лекарственной формы.

Осуществление изобретения

1. Компоненты состава

Пробиотики по настоящему изобретению включают, например и без ограничения, членов родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Bacterioides* или другие организмы, проявляющие пробиотический эффект, их части, фрагменты, компоненты, белки или продукты жизнедеятельности таких организмов. Более конкретно - культуры *Bifidobacterium animalis* подвид *lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum* (например, производства DANISCO®, коды производителя 1217794 и 1244824, торговые названия BI-05 100B 1KG, BI-05 100B 20KG, количество жизнеспособных пробиотиков $\geq 1,0E+11$ КОЕ/г; *Bifidobacterium longum* B1-05 SD-5588), *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei* подвид *casei*, *Lactobacillus casei* подвид *rhannosus*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus fermentum* (например, производства NUTRACEUTIX®, количество жизнеспособных пробиотиков $\geq 5,0E+10$ КОЕ/г, включая источники, не содержащие ГМО, в том числе SD-5847), *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactococcus lactis* подвид *lactis*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus thermophilus*, *Saccharomyces boulardii* и различные модифицированные почвенные организмы. Пробиотики по настоящему изобретению могут включать микроорганизмы, которые не найдены в природе, или пробиотики, которые изменены таким способом, что содержат чужеродный генетический или химический материал, включая рекомбинантную ДНК. Пробиотики по настоящему изобретению также включают пробиотические ферменты, произведенные, или полученные, или выделенные из бактерий, и другие продукты жизнедеятельности пробиотиков, включая, например, супероксиддисмутазу (СОД). Пробиотики по настоящему изобретению могут также необязательно включать нежизнеспособные клетки или их компоненты или фрагменты.

Каждый слой состава может содержать свой пробиотик или смесь пробиотиков,

которые различаются на уровне одного или более родов, видов, подвигов и штаммов.

Составы согласно настоящему изобретению содержат один или более компонентов, которые защищают пробиотическую массу от вредного воздействия желудочной кислоты. Такие соединения включают, например, карбонат натрия, гидрокарбонат натрия и фосфат натрия.

Дополнительные компоненты составов на основе пробиотиков включают гидрофильные агенты, такие как, например, агенты, обеспечивающие набухание, увеличивающие вязкость и усиливающие стойкость геля. Гидрофильные агенты могут быть выбраны из группы, включающей, например: крахмалы (например, кукурузный, рисовый или картофельный крахмал), гидрофильную камедь, полисахарид или галактоманнан (например, пектин, агар, декстран, каррагинан, трагакантовую камедь, камедь бобов рожкового дерева, гуммиарабик, гуаровую камедь, ксантановую камедь, камедь гхатти, альгиновую кислоту или альгинат натрия), производные целлюлозы (например, метилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, крахмалгликолят натрия, карбоксиметилцеллюлозу натрия или кальция, гидроксипропилцеллюлозу, этилгидроксипропилцеллюлозу, этилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, ацетатфталат целлюлозы или микрокристаллическую целлюлозу), диоксид кремния (например, диоксид кремния, торговое название PRIOSIL PS-200, производства Glassven; № CAS 7631-86-9), силикат алюминия, силикат магния, алюмосиликат магния, силикат натрия или полевого шпата, гидроксид алюминия, белки (например, желатин или казеин), полимеры (например, акрилат, карбоксиполиметилен, полиалкиленгликоль или поливинилпирролидон), гидрофильные полимеры (например, производные целлюлозы, такие как микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) (например, № CAS 9004-34-6; микрокристаллическая целлюлоза МКЦ 112 производства Accent Microcell Private Ltd.; материал может быть получен из древесной массы, включая источники, не содержащие ГМО), гидроксипропилметилцеллюлозу (ГПМЦ) (известную также как гипромеллоза) (например, METHOCCEL® K100 PREMIUM производства THE DOW CHEMICAL COMPANY; материал может быть получен из древесной массы и короткого хлопкового волокна; № CAS 9004-65-3), или гидроксипропилцеллюлозу (ГПЦ), или камеди и полисахариды, такие как гуаровая камедь или мальтодекстрин. Также можно использовать комбинированные материалы, такие как, например, AVICEL® CE-15 (МКЦ) и гуаровая камедь производства FMC Biopolymer, причем каждый компонент получен из древесной массы и растительных источников, соответственно, включая источники, не содержащие ГМО (№ CAS 9004-34-6 и № CAS 9004-30-0).

Также можно использовать гидрофобные агенты, включающие воски и другие инертные материалы, например, такие как этилцеллюлоза или карнаубский воск.

В составах по настоящему изобретению можно использовать явление набухания, зависящего от pH, или сайт-специфичной деградации фермента, чтобы изменять нужным образом контролируемое высвобождение пробиотиков. Например, можно использовать один или более из следующих компонентов, или их отрегулированные относительные количеств в составе: альгинаты, полисахариды, такие как желатин или коллаген, гуаровая камедь, ксантановая камедь, пектин (например, полученный из цитрусовой и яблочной кожуры, включая цитрусовую и яблочную кожуру, не содержащую ГМО), гетерогенная белковая смесь, полипептиды, полисахариды (например, PECTIN 150 SLOW SET производства Herbstreith & Fox; № CAS 9000-69-5), пектин и/или соль альгината и галактоманнанные камеди (например, гуаровая камедь, ксантановая камедь и/или камедь бобов рожкового дерева), производные полиэтилена (например, полиэтиленоксид (ПЭО) и/или полиэтиленгликоль (ПЭГ)), гидролизованные белки

(например, желатин и/или коллаген) и полипептиды (например, желатин, коллаген, казеин или гетерогенная смесь белков).

Дополнительно, можно включать электролиты, такие как, например, соли натрия, калия, безводный карбонат натрия (например, безводный карбонат натрия для пищевой промышленности, в том числе № CAS 497-19-8) или соли кальция. Включение физиологически приемлемых электролитов может создавать буферную среду, которая делает возможным осуществление восстановления и высвобождения при pH, оптимальном для жизнеспособности бактерий. Взаимодействие между электролитом и, например, гидрофильным агентом, делает возможным не только pH-зависимое высвобождение пробиотика, но также стабилизирует внутреннее pH лекарственной формы. Поддержание постоянного внутреннего pH дает вклад в стабильность пробиотиков.

Связующие вещества, некоторые из которых могут выполнять двойную функцию в составах, как указано выше, могут включать ГПМЦ, МКЦ, гуаровую камедь, пектин (как когезионное связующее вещество) и т.д.

Дополнительные необязательные ингредиенты включают соли, осушители, разрыхляющие агенты, агенты, обеспечивающие сыпучесть и упаковывание, смазывающие вещества и окрашивающие агенты. Например, физиологически приемлемые соли можно добавлять к пробиотикам при лиофилизации в соотношении пробиотиков к соли, составляющем от 1,0:0,1 до 1,0:25. Добавление солей также помогает поддерживать постоянное pH в самой лекарственной форме и действует как криопротектор в процессе сублимационной сушки, что предотвращает разрушение клеток. Осушители могут включать, например, карбоксиметилцеллюлозу натрия, карбоксиметилцеллюлозу кальция, коллоидный диоксид кремния и/или их комбинации. Разрыхляющие агенты могут включать, например, кроскармеллозу натрия под торговым названием SOLUTAB[®] производства Blanver Farmoquimica LTDA и кросповидон (нерастворимый поливинилпирролидон) под торговым названием KOLLIDON[®] производства BASF. Агенты, обеспечивающие сыпучесть и упаковывание, и смазывающие агенты могут включать, например, стеарат магния и стеариновую кислоту (например, STEARIC ACID TRISTAR 149). Окрашивающие агенты могут включать, например, куркуму (например, № 03255 TURMERIC CG 90).

2. Способы получения составов

Составы по данному изобретению можно получать путем объединения различных порошковых смесей, причем каждая смесь содержит один или более заранее выбранных пробиотиков. Эти смеси могут быть спрессованы вместе в многослойную лекарственную форму с помощью однократного прессования. В альтернативном варианте смесь, используемую для получения любого одного слоя, можно предварительно прессовать до объединения с одним или более дополнительными слоями. В одном варианте реализации изобретения лекарственная форма представляет собой многослойную таблетку или каплету. В предпочтительном варианте реализации изобретения лекарственная форма представляет собой двухслойную таблетку или каплету для перорального применения. В другом предпочтительном варианте реализации изобретения лекарственная форма представляет собой двухслойную таблетку, полученную путем последовательного прямого прессования на двустороннем таблеточном прессе. Прессование может включать намеренное использование охлаждения, чтобы избежать повреждения пробиотиков.

Порошковые смеси, используемые в настоящем изобретении, являются сухими. Порошковые смеси могут содержать лиофилизированные предварительные смеси

пробиотиков. В частности, содержание влаги в порошковых смесях до прессования не превышает 5%. Готовые лекарственные формы согласно настоящему изобретению характеризуются содержанием влаги, не превышающим 0,275 Aw.

Обработку смесей для таблеток выполняют при температуре и влажности окружающей среды. Температура и влажность в помещении для обработки в оптимальных условиях не должны превышать 23°C/относительная влажность 45, а очень низкая влажность может приводить к электростатическим проблемам и трудностям при смешивании и прессовании сухих ингредиентов. Нерасфасованные концентраты культур и нерасфасованные готовые лекарственные формы хранили при температуре -10°C или ниже. Когда изготовление таблеток не производилось, технологические смеси для таблеток хранили при пониженной температуре 4-15°C в герметически закрытых лайнерах.

Стабильность составов, описанных в данном документе, можно оценить с использованием различных тестов и протоколов. Например и без ограничения, составы предпочтительно можно исследовать в условиях реального времени в течение 18 месяцев и/или в условиях окружающей среды (17-20°C/относительная влажность $\leq 50\%$) для определения жизнеспособных КОЕ через, например, 1 день, а затем снова через 120 дней. В альтернативном варианте, например и без ограничения, составы можно исследовать в условиях реального времени в течение 18 месяцев и/или в условиях окружающей среды (25°C/относительная влажность 60%) для определения жизнеспособных КОЕ через, например, 1 день, а затем снова через 120 дней.

Предполагается, что на стабильность ничего не должно влиять; однако первоначальные потери при прессовании могут быть выше вследствие много- или двухстадийного процесса прессования.

Изготовление двухслойных таблеток или каплет, содержащих пробиотики, можно выполнять в соответствии со стандартной схемой и инструкциями, предоставленными производителями прессовальных машин для получения двухслойных лекарственных форм. Например, собран двусторонний таблеточный пресс, выполненный с возможностью включать смеси двух отдельных составов посредством двухстадийного процесса прессования, при этом каждая из двух загрузочных воронок пресса заполнена смесями. После запуска процесса операторы регулируют скорость вращения, скорость потока, силу сжатия и глубину погружения пуансона для введения смеси и прессования каплеты на первой стадии (первая сторона). Эта сторона попадает на штамп второй стадии наполнения и прессования (вторая сторона) с образованием единой таблетки.

В одном варианте реализации изобретения относительные количества первой стороны и второй стороны в двухслойной таблетке могут изменяться от приблизительно 60%:40% до 70%:30% по массе в зависимости от используемого пресса и штампа для таблеток. В конкретном варианте реализации изобретения, как показано в примере 1, масса двухслойной таблетки включает приблизительно 67% от общей массы на первой стадии прессования и приблизительно 33% от общей массы на второй стадии прессования. После завершения процесса таблетки извлекаются из пресса, и система пуансон/матрица поворачиваются назад к первой стадии для повторения процесса.

3. Составы

В дополнение к общим параметрам составов, представленных в данном документе, составы, используемые в любом слое, или в одной, или в обеих индивидуальных сторонах (в случае двухслойной таблетки), или в каждом субкомпоненте (в случае многослойной таблетки), по настоящему изобретению перекрываются с несколькими из однородных составов отдельных единиц дозирования, описанных в патентах США № 8540980 и

8007777 (которые относятся к и/или описывают составы BIO-tract®). В связи с этим авторы настоящего изобретения включили в данный документ результаты и данные из известного уровня техники, которые относятся к получению некоторых однородных кислотозащитных лекарственных форм с различным высвобождением пробиотика, поскольку установлено, что значительная переработка, изменение формы и назначения могут быть эффективными для получения многослойных лекарственных форм по настоящему изобретению, причем каждый слой содержит свой пробиотик и необязательно характеризуется индивидуальным профилем высвобождения. См. примеры 4-12 и фиг. 2-10.

В предпочтительном варианте реализации изобретения один или более отдельных слоев или «сторон» двухслойной таблетки по настоящему изобретению могут содержать 5-40% гидрофильного агента, 5-40% агента, модифицирующего высвобождение и 1-40% электролитов. Изменение времени высвобождения может первоначально достигаться путем изменения вводимого количества (в %) и вязкостей агентов, влияющих на высвобождение.

Например, в одном варианте реализации изобретения предложена двухслойная таблетка согласно настоящему изобретению, имеющая целевую массу около 923 мг, при этом масса первого слоя составляет около 621 мг, а масса второго слоя составляет приблизительно 302 мг. Подразумевается, что можно получить вариации этого варианта реализации, когда масса первого слоя составляет около 621 мг (± 50 мг), а масса второго слоя составляет около 302 мг (± 30 мг).

Авторы изобретения также установили, что включение определенных количеств (% масс.) определенных одинаковых ингредиентов в каждый слой дает вклад в успешное получение объединенных связанных многослойных лекарственных форм и уменьшает или устраняет истираемость готовых лекарственных форм. Например, для лекарственных форм, разработанных главным образом для обеспечения различными пробиотиками из отдельных многослойных лекарственных форм, оптимальным является уравновесить слои первой стороны и второй стороны двухслойной таблетки одними и теми же относительными процентными содержаниями всех ингредиентов. Авторы изобретения также установили, что особенно важно, чтобы компоненты состава, такие как ГПМЦ, пектин, МКЦ и предварительная порошковая смесь пробиотиков, присутствовали в относительно одинаковых количествах в каждой стороне для обеспечения наилучшего сцепления единицы дозирования. Сцепление лекарственной формы является важным не только для приемлемого хранения продукта, но и для стабильности и функциональности лекарственных форм. Причина состоит в том, что с разделенными, разломанными и расколотыми лекарственными формами труднее обращаться, что физически выражается в меньших размерах дозировок и увеличенной площади поверхности, которая подвергается действию кислорода (стабильность) и/или растворяющих агентов желудочно-кишечного тракта, что может приводить к преждевременному растворению и недейственной или неэффективной доставке пробиотической массы.

В нескольких составах двухслойных таблеток по настоящему изобретению ГПМЦ, пектин, МКЦ и предварительная порошковая смесь пробиотиков являются основными вводимыми компонентами (по массе) в готовых лекарственных формах.

В одном варианте реализации изобретения составы двухслойных таблеток по настоящему изобретению содержат одинаковые или практически одинаковые относительные количества (в процентах по массе) одного или более основных вводимых компонентов данного состава, включая, но не ограничиваясь ими, ГПМЦ, пектин,

МКЦ и предварительную порошковую смесь пробиотиков, в каждом слое, что способствует получению объединенной связанной многослойной лекарственной формы. Например, относительные количества (в процентах по массе) компонента данного состава в каждой стороне двухслойной таблетки могут составлять в пределах около 20% количества другой стороны, более предпочтительно - в пределах около 15% количества другой стороны, еще более предпочтительно - в пределах около 10% количества другой стороны, а наиболее предпочтительно - в пределах около 5% количества другой стороны, и необязательно - в пределах около 1% количества другой стороны.

Следует отметить, что хотя лекарственные формы по настоящему изобретению наиболее часто упоминаются в данном документе как двухслойные таблетки, настоящее изобретение охватывает многослойные составы и все типы спрессованных лекарственных форм для перорального применения, такие как таблетки и капли.

4. Целенаправленное высвобождение

Различные популяции культур предпочтительно населяют различные области желудочно-кишечного тракта человека. В контексте лекарственных форм для перорального применения с целенаправленным высвобождением микроорганизмы, населяющие полость рта и пищевод, не рассматриваются. Экология микроорганизмов тонкого кишечника (двенадцатиперстной кишки, тонкой кишки и подвздошной кишки) в основном представлена, например, видами *Lactobacillus* и *Streptococcus*. Толстая кишка (восходящая, поперечная и нисходящая) содержит, например, некоторые строго анаэробные микробные популяции, в которых преобладают *Bifidobacteria*, *Bacteroides* и *Clostridium*, а также *Enterobacteriaceae*.

Желудочно-кишечный тракт человека является первым защитным механизмом для предотвращения заболеваний. Ферменты и кислоты в желудке способны уничтожать патогены, до того как они смогут инфицировать и распространиться или вызвать заболевание. Пробиотические культуры могут погибнуть при воздействии кислот желудка, пищеварительных ферментов и солей желчных кислот.

Культуры отличаются по их способности сопротивляться этим пищеварительным агентам, при этом некоторые являются очень чувствительными, а некоторые - более устойчивыми. Однако, как правило, в желудке происходит значительное уменьшение количества жизнеспособных клеток. Исторически выбор пробиотиков был сфокусирован на штаммах, способных сопротивляться этим агентам, и существует несколько эффективных способов доставки для защиты чувствительных культур за пределами области, в которой присутствуют пищеварительные агенты, в желудочно-кишечном тракте.

Много традиционных порошковых и жидких лекарственных форм на основе пробиотиков не обеспечивают никакой защиты от кислот для дозы культуры, и часто выживаемость при прохождении через желудок основана только на природной устойчивости культуры к кислотам. Во многих способах доставки высвобождается сразу вся масса в начале тонкого кишечника, при этом наблюдается всплеск, зависящий от pH/фермента. Для культур, приспособленных к такому окружению, это может быть эффективным, но для культур, чувствительных к кислородному потенциалу верхней части тонкого кишечника, всплеск или немедленное высвобождение может приводить к потере жизнеспособности. Более эффективная система доставки для культур, чувствительных к кислородному потенциалу верхней части тонкого кишечника, будет обеспечивать защиту и высвобождение жизнеспособных культур с запозданием или в течение длительного периода в нижней части желудочно-кишечного тракта, включая

толстую кишку.

В одном варианте реализации изобретение относится к препаратам с изменяющимися профилями высвобождения для помещения по меньшей мере двух различающихся классов пробиотиков, предпочтительно в предназначенные для них микробные ниши.

5 Например, настоящее изобретение может доставлять *Lactobacillus* и *Streptococcus* в тонкий кишечник или верхние отделы желудочно-кишечного тракта, а такие облигатные анаэробы, как *Bifidobacteria*, далее в нижнюю часть кишечника. Примеры составов для демонстрации концепции включают сравнение твердых лекарственных форм каждой культуры с немедленным высвобождением в качестве отрицательных контролей (без защиты) и, например, двухслойных таблеток согласно настоящему изобретению.

10 *Bifidobacterium infantis* является очень чувствительной к кислороду и воздействию кислот. Например, смесь на основе *B. infantis* может быть разработана так, что будет характеризоваться длительным высвобождением и превосходной защитой от кислот, например, для доставки в нижние отделы желудочно-кишечного тракта. *Lactobacillus plantarum* также является аэротолерантной и устойчивой к кислотам; эта смесь 15 разработана так, что характеризуется средней защитой от кислот и более коротким профилем высвобождения, например, для доставки посредством лекарственных форм для перорального применения в верхние отделы желудочно-кишечного тракта.

В одном варианте реализации настоящего изобретения для двухслойных таблеток, 20 содержащих смесь на основе *B. infantis* с одной стороны, и *L. plantarum* со второй стороны, можно оценить потери при прессовании и количество различных высвободившихся жизнеспособных организмов с течением времени при растворении. В другом варианте реализации изобретения для двухслойных таблеток, содержащих смесь на основе *B. lactus* с одной стороны, и *L. fermentum* со второй стороны, можно 25 оценить потери при прессовании и количество различных высвободившихся жизнеспособных организмов с течением времени при растворении.

Дополнительно, следует отметить, что дополнительная масса первого, или основного, слоя или стороны двухслойной таблетки относительно второго слоя может влиять на 30 устойчивость к кислоте. Следовательно, вышеупомянутые варианты реализации двухслойных таблеток можно исследовать путем сравнения каждого пробиотика или в первом, или во втором слое для определения того, какая многослойная лекарственная форма обладает наилучшим общим уровнем устойчивости.

Предпочтительные комбинации могут высвобождать, например, 25-70% от массы твердой дозы состава для тонкого кишечника между 3-7 часами; и, например, 35-90% 35 от состава для толстой кишки между 6-12 часами.

В некоторых вариантах реализации двухслойных таблеток, например, около 30-40% массы твердой дозы доставляется в тонкий кишечник между 3-7 часами главным образом из основной первой стороны. Затем оставшееся количество твердой дозы доставляется в толстую кишку или нижние отделы кишечника между 6-12 часами главным образом 40 из второй стороны. В некоторых других вариантах реализации двухслойных таблеток, например, около 20-30% массы твердой дозы доставляется в тонкий кишечник между 3-7 часами главным образом из первой стороны. Затем оставшееся количество твердой дозы доставляется в толстую кишку или нижние отделы кишечника между 6-12 часами главным образом из второй стороны.

45 Примеры

Пример 1. Связанный состав на основе *B. Lactis* и *L. Fermentum* и его получение
Таблица 1

| | Часть А | Вводимое количество на сторону (мг) | % от стороны | Функция |
|----|--|-------------------------------------|--------------|---------------------------|
| | <i>Bifidobacterium lactis</i> | 100,50 | 17% | активный агент |
| | Микрокристаллическая целлюлоза | 274,03 | 47% | наполнитель |
| | ГПМЦ, Methocel, Dow K100m premium | 67,00 | 11% | связующее/полимер |
| 5 | Пектин (150, медленно схватывающийся) | 100,50 | 17% | модификатор высвобождения |
| | Безводный карбонат натрия для пищевой промышленности | 10,72 | 2% | соль |
| | Стеариновая кислота (tristar 149). | 10,72 | 2% | смазывающее вещество |
| | Avicel CE-15 | 13,40 | 2% | смазывающее вещество |
| | Куркума № 3255 (краситель) | 1,68 | 0% | краситель |
| 10 | Диоксид кремния | 6,70 | 1% | смазывающее вещество |
| | | 585,25 | 100% | |
| | Часть В | | | |
| | <i>Lactobacillus fermentum</i> | 49,50 | 17% | активный агент |
| | Микрокристаллическая целлюлоза | 132,33 | 46% | наполнитель |
| | ГПМЦ, Methocel, Dow K100m premium | 33,00 | 12% | связующее/полимер |
| 15 | Пектин (150, медленно схватывающийся) | 49,50 | 17% | модификатор высвобождения |
| | Безводный карбонат натрия для пищевой промышленности | 5,28 | 2% | соль |
| | Стеариновая кислота (tristar 149). | 5,28 | 2% | смазывающее вещество |
| | Avicel CE-15 | 6,60 | 2% | смазывающее вещество |
| | Диоксид кремния | 3,33 | 1% | смазывающее вещество |
| 20 | | 284,82 | 100% | |

Двухслойные таблетки из вышеприведенных составов готовили с использованием двустороннего пресса Manesty® и пресса предварительного сжатия для двухслойных таблеток (модель с маркировкой IV) для того, чтобы включить смеси с двумя различными рецептурами посредством процесса двукратного прессования.

Размер используемых матрицы или пуансона составляет 0,312 x 0,750 (внутренний диаметр пуансона: D23). Двухслойные таблетки можно изготавливать со скоростью вращения барабана 1000 таблеток в минуту. Глубина погружения верхнего пуансона составляет 8 мм сзади и 4 мм спереди. Для первого слоя глубина погружения составляет около 0,531 (заданная величина 0,377), а для второго слоя глубина погружения составляет около 0,564 (заданная величина 0,394). Для первого слоя среднее давление пуансона (фунтов/дюйм²) составляет около 202 (предварительное сжатие) и около 738 (основное сжатие). Для второго слоя среднее давление пуансона составляет около 64 (предварительное сжатие) и около 2188 (основное сжатие). Окончательное значение КР (килопонд) составляет около 10,7 КР (среднее). Истираемость таких двухслойных таблеток составляет около 0,25%, причем истираемость указывает на разлом таблеток или разделение слоев.

Испытание на истираемость представляет собой стандартное испытание фармакопеи США (USP) для определения прочности таблеток: десять (10) таблеток взвешивают, затем помещают в барабан стандартных размеров, который вращается со стандартной скоростью, на стандартное время, затем взвешивают снова. Потерю массы выражают в процентах. Потери < 1% являются хорошим показателем для большинства пищевых добавок и исключительной для пробиотиков.

В данном изобретении масса готовой лекарственной формы (масса/масса) составляет около 870 мг, а целевая масса составляет около 923 мг, причем на первый слой приходится около 621 мг, а на второй слой - около 302 мг.

Пример 2. Оценка кислотозащитных свойств составов, представляющих собой двухслойные таблетки, содержащие различные культуры

Устойчивость жизнеспособных пробиотических культур оценивали с помощью устройства для растворения типа 2 согласно USP в условиях «натошак»: 30 минут выдерживали при pH 2,5 при 37°C с мешалкой, работающей при 50 об/мин. Каждая экспериментальная точка представляет собой среднее трех отдельных тестов, которые отдельно повторяли в 900 мл среды для растворения. Исследуемые лекарственные формы были приготовлены согласно примеру 1.

В оставшемся материале капсулы в конце периода выдерживания определяли количество пробиотиков путем осторожного извлечения гидратированной капсулы из камеры и проведения анализа определения количества микроорганизмов чашечным методом, который заключается в осторожном растворении и гомогенизации в смесителе Stomacher и последующем стандартном определении количества микроорганизмов чашечным методом для подсчета жизнеспособных колониеобразующих единиц.

Для оценки выживаемости пробиотиков в незащищенном состоянии определяли количество жизнеспособных микроорганизмов в лиофилизированных порошках культур (используемых для изготовления капсул) до воздействия кислоты, и 1 г этого материала гидратировали в среде для растворения в устройстве и подвергали такому же воздействию. После воздействия кислоты образцы извлекали из среды и обрабатывали, как описано выше, для определения количества жизнеспособных микроорганизмов.

Отдельное определение количеств *B. lactis* и *L. fermentum* было возможно благодаря различному внешнему виду колоний культур, эти количества выражали как общие количества извлеченных жизнеспособных клеток после введения поправки на коэффициент разбавления. Выживаемость определяли путем деления извлеченных КОЕ после воздействия кислоты на введенные КОЕ и выражали в процентах. Дополнительно, эти данные выражали в виде «коэффициента защиты» для отдельных культур путем деления доли выживших микроорганизмов в капсуле на долю выживших микроорганизмов в незащищенном порошке.

Таблица 2

| 30 минут, pH 2,5 при 37°C, при 50 об/мин | | | | |
|---|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------|
| № продукта / партии | До растворения КОЕ/капсула | После растворения КОЕ/капсула | Доля выживших микроорганизмов, % | Коэффициент защиты |
| Количество <i>B. lactis</i> в двухслойной капсуле/таблетке | 4,5E+09 | 3,0E+09 | 60,0 | 18X |
| Количество <i>L. fermentum</i> в двухслойной капсуле/таблетке | 2,3E+09 | 1,5E+09 | 73,9 | 1850X |
| | Введенные КОЕ до растворения | Извлеченные КОЕ после растворения | | |
| Количество <i>B. lactis</i> в незащищенном порошке | 6,0E+11 | 2,0E+10 | 3,3% | |
| Количество <i>L. fermentum</i> в незащищенном порошке | 5,0E+11 | 2,0E+08 | 0,04% | |

L. fermentum представляет собой культуру, чувствительную к кислоте, но она предназначена для доставки в верхние отделы желудочно-кишечного тракта, так что ее традиционно рассматривают пригодной для составов с быстрым высвобождением или составов, где не требуются пролонгированные или контролируемые профили высвобождения. Данные данного изобретения указывают на сильную потерю жизнеспособности *L. fermentum*, когда ее тестировали непосредственно в кислоте, и предотвращение или заметное снижение этих потерь, когда ее включали в состав кислотозащитных лекарственных форм по данному изобретению, таких как описано в примере 1. Эти результаты подчеркивают важность защиты от кислоты при

прохождении желудка, даже если культура, которую применяют, предназначена для доставки в верхние отделы желудочно-кишечного тракта, а следовательно, предполагается, что ей не нужна защита от кислоты желудка.

Эта серия испытаний демонстрирует превосходную защиту массы жизнеспособных микроорганизмов для каждого из двух различных видов пробиотических культур, содержащихся в двухслойной таблетке. Неожиданно обнаружено, что культура *L. fermentum* в отсутствие состава по настоящему изобретению оказалась чрезвычайно чувствительной к кислоте. Действительно, авторы изобретения установили, что составы по настоящему изобретению характеризуются значительным фактором защиты - свыше 1800X для культуры *L. fermentum*.

В данном случае, хотя культура *Bifidobacterium*, *B. lactis*, является на несколько порядков более устойчивой к кислоте, чем культура *L. fermentum*, обе культуры получают пользу от защиты от кислоты, обеспечиваемой двухслойными таблетированными лекарственными формами. Приведенные в документе данные демонстрируют важное преимущество использования кислотозащитных составов, описанных в данном документе, для всех культур вне зависимости от того, является культура (или культуры), введенная в состав более или менее чувствительной к кислотам, и вне зависимости от того, верхние отделы желудочно-кишечного тракта или нижние отделы желудочно-кишечного тракта являются целевыми местами доставки.

Дополнительно, этот пример показывает, что кислотозащитные составы по настоящему изобретению позволяют объединять вместе несовместимые составы, содержащие, например, чувствительные или устойчивые к кислотам культуры, в одну связанную лекарственную форму, которая обеспечивает совместную одинаковую защиту от кислот при прохождении массы пробиотиков из лекарственной формы через желудок. Следовательно, этот пример показывает, что кислотозащитные многослойные лекарственные формы по настоящему изобретению могут способствовать доставке подходящих пробиотиков, включая пробиотики, чувствительные к кислоте, в целевые участки, расположенные в различных областях желудочно-кишечного тракта.

Пример 3. Оценка замедленного высвобождения

Для демонстрации замедленного высвобождения жизнеспособных пробиотиков из этих лекарственных форм, приготовленных согласно примеру 1, в искусственных условиях, моделирующих прохождение через кишечник, для первоначального воздействия кислоты использовали аналогичное устройство типа 2 согласно USP и параметры испытания, как указано в примере 2 (т.е. устройство для растворения типа 2 согласно USP с параметрами испытания, моделирующими прием натощак: 30 минут воздействия при pH 2,5 при 37°C с мешалкой, работающей при 50 об/мин). Затем через 30 минут pH камер доводили до нейтрального значения 7,0-7,5, и лекарственные формы оставляли в камерах для дополнительного растворения в общем на 3, 6 или 9 часов. Изображения лекарственных форм, полученных согласно примеру 1, представлены в данном документе на фиг. 1A, 1B, 1C и 1D для каждого из начального момента времени, 3 часов, 6 часов и 9 часов, соответственно. В конце каждого исследуемого периода остаток лекарственной формы осторожно извлекали из камеры и обрабатывали, как описано выше, для определения количества жизнеспособных микроорганизмов, оставшихся в незатронутой каплете. Отбирали образец среды для растворения, в котором определяли количество жизнеспособных пробиотиков, высвобожденных в среду. Количества корректировали так, чтобы они отражали общее количество КОЕ, внесенных в и извлеченных из камеры для растворения. Как и раньше для каждой экспериментальной точки выполняли три повторения и использовали среднюю величину.

Данные ниже указывают на постепенно возрастающее извлечение клеток по мере растворения двухслойной таблетки. Строка общего извлечения внизу указывает на то, что извлечение пробиотиков постепенно уменьшается, но, что важно, извлечение клеток возникает и происходит в течение по меньшей мере 9 часов воздействия.

Таблица 3

30 минут, pH 2,5 при 37°C, 50 об/мин с последующей нейтрализацией среды и продолжением растворения

| | | | | |
|----|--|---|------------------------------------|--|
| | Оставшаяся часть каплет, которую анализировали через: | До растворения КОЕ/каплета | После растворения КОЕ/каплета | Доля выживших микроорганизмов, % |
| 10 | 3 часа - общее количество | 7,70E+09 | 1,6E+09 | 20,8% |
| | 3 часа - количество <i>B. lactis</i> | 4,5E+09 | 7,4E+08 | 16,5% |
| | 3 часа - количество <i>L. fermentum</i> | 2,3E+09 | 8,6E+08 | 37,2% |
| | 6 часов - общее количество | 7,70E+09 | 6,8E+08 | 8,8% |
| | 6 часов - количество <i>B. lactis</i> | 4,5E+09 | 2,7E+08 | 6,0% |
| 15 | 6 часов - количество <i>L. fermentum</i> | 2,3E+09 | 4,1E+08 | 17,8% |
| | 9 часов - общее количество | 7,70E+09 | 1,5E+08 | 2,0% |
| | 9 часов - количество <i>B. lactis</i> | 4,5E+09 | 2,3E+07 | 0,5% |
| | 9 часов - количество <i>L. fermentum</i> | 2,3E+09 | 1,3E+08 | 5,7% |
| | Среду для растворения анализировали через: | До растворения КОЕ, введенные в каплету | После растворения, извлеченные КОЕ | Доля выживших микроорганизмов, % |
| 20 | 3 часа - общее количество | 7,70E+09 | 3,8E+08 | 5,6 |
| | 3 часа - количество <i>B. lactis</i> | 4,5E+09 | 1,8E+08 | 3,9 |
| | 3 часа - количество <i>L. fermentum</i> | 2,3E+09 | 2,1E+08 | 9,1 |
| | 6 часов - общее количество | 7,70E+09 | 1,2E+09 | 17,1 |
| | 6 часов - количество <i>B. lactis</i> | 4,5E+09 | 5,1E+08 | 11,2 |
| | 6 часов - количество <i>L. fermentum</i> | 2,3E+09 | 6,6E+08 | 28,6 |
| 25 | 9 часов - общее количество | 7,70E+09 | 9,1E+08 | 13,3 |
| | 9 часов - количество <i>B. lactis</i> | 4,5E+09 | 3,9E+08 | 8,6 |
| | 9 часов - количество <i>L. fermentum</i> | 2,3E+09 | 5,2E+08 | 22,6 |
| | Общее извлеченное количество жизнеспособных организмов, каплет + среда | До растворения КОЕ, введенные в каплету | После растворения, извлеченные КОЕ | Всего Доля выживших микроорганизмов, % |
| 30 | 3 часа - общее количество | 7,70E+09 | 2,0E+09 | 26% |
| | 3 часа - количество <i>B. lactis</i> | 4,5E+09 | 9,2E+08 | 20% |
| | 3 часа - количество <i>L. fermentum</i> | 2,3E+09 | 1,1E+09 | 46% |
| | 6 часов - общее количество | 7,70E+09 | 1,8E+09 | 24% |
| | 6 часов - количество <i>B. lactis</i> | 4,5E+09 | 7,7E+08 | 17% |
| | 6 часов - количество <i>L. fermentum</i> | 2,3E+09 | 1,1E+09 | 46% |
| 35 | 9 часов - общее количество | 7,70E+09 | 1,1E+09 | 14% |
| | 9 часов - количество <i>B. lactis</i> | 4,5E+09 | 4,1E+08 | 9% |
| | 9 часов - количество <i>L. fermentum</i> | 2,3E+09 | 6,5E+08 | 28% |

Для остатков лекарственных форм наблюдалось постепенное уменьшение количества жизнеспособных бактерий по мере перехода лекарственных форм в среду. В образцах среды постепенно увеличивалось количество микроорганизмов в течение исследуемых 9 часов. Важно, что извлечение жизнеспособных бактерий длилось на протяжении 9 часов, причем общее извлечение падало с 66% от исходной дозы через 30 минут до 26%, 24% и 14% через 3, 6 и 9 часов, соответственно. Следует отметить, что в течение всего периода растворения извлекалось значительное количество активных клеток.

В следующих примерах представлены составы слоев, предлагаемые для использования в качестве субкомпонентов лекарственных форм по настоящему изобретению. Эти составы по отдельности считаются слишком маленькими по общей массе, чтобы их использовать в традиционных прессах для многослойных таблеток. Следует отметить, что одним способом увеличить общую массу является, например, включение

наполнителей, например МКЦ или мальтодекстрина. Следует отметить, однако, что, хотя включение МКЦ или мальтодекстрина может являться важным для прессования таблеток, эти компоненты, как правило, не способствуют прочности сцепления таблетки. Дополнительно, включение больших количеств МКЦ или мальтодекстрина может

5 влиять на скорость высвобождения из таблетки, т.е. увеличивать скорость высвобождения.

Приготовление лекарственных форм по настоящему изобретению может включать объединение одного или более из следующих составов слоев с другими составами слоев, описанными в данном документе, для получения многослойных связанных

10 кислотозащитных составов по настоящему изобретению, чтобы получить слои с различными пробиотиками, и чтобы получить слои с различными пробиотиками, обладающими различными профилями высвобождения.

Пример 4

Один субкомпонент многослойной лекарственной формы, или сторона лекарственной

15 формы, представляющей собой двухслойную таблетку, которая имеет массу приблизительно 382 мг и содержит гидрофильный агент и предварительную смесь на основе пробиотиков, была приготовлена так, как показано в таблице 4. Группа A1 представляет собой контрольную группу. В этом примере предварительная смесь на основе пробиотиков состоит из полезных микроорганизмов, таких как предварительная

20 лиофилизированная порошковая смесь молочнокислых бактерий, и крахмала. Используемый гидрофильный агент представляет собой микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ), мальтодекстрин, гидроксипропилметилцеллюлозу (ГПМЦ) или полиэтиленоксид (ПЭО). Добавление гидрофильного агента будет замедлять высвобождение пробиотика из лекарственной формы. Стеариновую кислоту включают

25 в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, а диоксид кремния используют в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, и осушителя.

Как показано на фиг. 2, результаты этого примера отражают уровень контролируемого высвобождения из отдельной стороны двухслойной лекарственной формы, при условии использования матрицы, состоящей из гидрофильного агента и

30 лиофилизированного пробиотика. Такое контролируемое высвобождение иллюстрируется тем, что доставляется значительно большее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) жизнеспособных молочнокислых бактерий после воздействия желудочной среды по сравнению с контролем. Использование менее поддающихся набуханию гидрофильных агентов, таких как МКЦ и мальтодекстрин,

35 связано с достаточными, но более низкими уровнями контроля. Превосходный уровень контроля демонстрируют матрицы как из полиэтиленоксида, так и из ГПМЦ. Таким образом, гидрофильный агент не ограничен конкретным типом агента при условии, что достигается достаточная вязкость матрицы.

Таблица 4

40

| Лекарственные формы (мг) | A1 (контроль) | A2 (Отрицательный контроль) | A3 (Отрицательный контроль) | A4 | A5 |
|--|------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----|-----|
| Предварительная смесь молочнокислых бактерий | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| ГПМЦ | 0 | 0 | 0 | 200 | 0 |
| ПЭО | 0 | 0 | 0 | 0 | 200 |
| МКЦ | 0 | 200 | 0 | 0 | 0 |
| Мальтодекстрин | 0 | 0 | 200 | 0 | 0 |
| Стеариновая кислота | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 |
| Диоксид кремния | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 |

45

| | | | | | |
|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| ОБЩАЯ МАССА | 182 | 382 | 382 | 382 | 382 |
|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|

Пример 5

Одну сторону двухслойной лекарственной формы, такой как таблетка, массой приблизительно 382 мг, содержащую гидрофильный агент, электролит и предварительную смесь пробиотиков, можно получить как показано в таблице 5. Группа В1 представляет собой контрольную группу. В составе используют ГПМЦ в качестве гидрофильного агента. Используемые электролиты включают любой один из NaHCO_3 , Na_2CO_3 или NaH_2PO_4 . В этом случае пробиотик состоит из предварительной лиофилизированной порошковой смеси молочнокислых бактерий и крахмала. В дополнение к электролиту, любую соль из NaHCO_3 , Na_2CO_3 или NaH_2PO_4 , используют для установления внутреннего pH лекарственной формы системы доставки. Стеариновую кислоту включают в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, а диоксид кремния используют в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, и осушителя.

Этот пример демонстрирует, как показано на фиг. 3, что внутреннее значение pH отдельной стороны двухслойной лекарственной формы изменяется в присутствии электролита, влияя на количество доставленных жизнеспособных КОЕ. Установление конкретного внутреннего pH связано с различными уровнями жизнеспособности для данного восстановленного лиофилизированного ВС. В частности, состав В2 содержит Na_2CO_3 , и электролит обеспечивает внутреннее pH лекарственной формы системы доставки и способствует восстановлению жизнеспособных молочнокислых бактерий.

Таблица 5

| Лекарственные формы (мг) | В1 (контрольный) | В2 | В3 | В4 |
|--|------------------|-----|-----|-----|
| Предварительная смесь молочнокислых бактерий | 150 | 150 | 150 | 150 |
| ГПМЦ | 00 | 100 | 100 | 100 |
| МКЦ | 200 | 0 | 0 | 0 |
| Na_2CO_3 | 0 | 100 | 0 | 0 |
| NaHCO_3 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| NaH_2PO_4 | 0 | 0 | 0 | 100 |
| Стеариновая кислота | 16 | 16 | 16 | 16 |
| Диоксид кремния | 16 | 16 | 16 | 16 |
| ОБЩАЯ МАССА | 382 | 382 | 382 | 382 |

Пример 6

Одну сторону двухслойной лекарственной формы, такой как таблетка, массой приблизительно 382 мг, содержащую гидрофильный агент, агент, модифицирующий высвобождение, и предварительную смесь пробиотиков, можно получить как показано в таблице 6. Группа С1 представляет собой контрольную группу. Используемый гидрофильный агент представляет собой ГПМЦ. Используемый модифицирующий высвобождение агент представляет собой пектин или желатин. ВС состоит из предварительной лиофилизированной порошковой смеси молочнокислых бактерий и крахмала. Стеариновую кислоту включают в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, а диоксид кремния используют в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, и осушителя.

Этот пример демонстрирует, как показано на фиг. 4, повышенный уровень контроля, что становится возможным, когда модифицирующий высвобождение агент добавляют к гидрофильной, поддающейся набуханию матрице. Присутствие пектина или желатина в качестве модифицирующего высвобождение агента связано со степенью зависящей от pH деградации и с общим увеличением вязкости матрицы, которое замедляет

высвобождение пробиотика. Это отражается в увеличении жизнеспособных КОЕ, доставляемых после воздействия желудочной среды с определенным рН.

Таблица 6

| | | | | |
|----|--|------------------|-----|-----|
| 5 | Лекарственные формы (мг) | C1 (контрольный) | C2 | C3 |
| | Предварительная смесь молочнокислых бактерий | 150 | 150 | 150 |
| | ГПМЦ | 0 | 100 | 100 |
| | МКЦ | 200 | 0 | 0 |
| | Пектин | 0 | 100 | 0 |
| | Желатин | 0 | 0 | 100 |
| 10 | Стеариновая кислота | 16 | 16 | 16 |
| | Диоксид кремния | 16 | 16 | 16 |
| | ОБЩАЯ МАССА | 382 | 382 | 382 |

Пример 7

Одну сторону двухслойной лекарственной формы, такой как таблетка, массой
 15 приблизительно 534 мг, содержащую гидрофильный агент, электролит, агент, модифицирующий высвобождение, инертный наполнитель и предварительную смесь пробиотиков, получали, как показано в таблице 7. Используемый гидрофильный агент представляет собой ГПМЦ. Используемый электролит представляет собой NaHCO_3 .
 Используемый модифицирующий высвобождение агент представляет собой пектин, а
 20 используемый инертный наполнитель представляет собой МКЦ. В этом примере используемая предварительная смесь пробиотиков состоит из предварительной лиофилизированной порошковой смеси молочнокислых бактерий и крахмала. Добавление инертного наполнителя приводит к увеличению сыпучести порошка, что зачастую благоприятно при производственном процессе. Стеариновую кислоту
 25 включают в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, а диоксид кремния используют в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, и осушителя. Куркуму включают в качестве красителя.

Как показано на фиг. 5, результаты этого примера демонстрируют диапазон для контролируемого высвобождения жизнеспособных пробиотических бактерий в течение
 30 длительного периода времени. Также показано, что контролируемое высвобождение из гидрофильной матрицы имеет аналогичные характеристики вне зависимости от длительности воздействия желудочной среды. E1 и E2 представляют собой идентичные составы, показывающие различие между контролируемым высвобождением через 1 час или 2 часа воздействия, соответственно.

35 Таблица 7

| | | | |
|----|--|-----|-----|
| 40 | Лекарственные формы (мг) | E1 | E2 |
| | Предварительная смесь молочнокислых бактерий | 150 | 150 |
| | ГПМЦ | 50 | 50 |
| | NaHCO_3 | 50 | 50 |
| | МКЦ | 200 | 200 |
| | Пектин | 50 | 50 |
| | Стеариновая кислота | 16 | 16 |
| | Диоксид кремния | 16 | 16 |
| | Куркума | 2 | 2 |
| 45 | ОБЩАЯ МАССА | 534 | 534 |

Пример 8

Одну сторону двухслойной лекарственной формы, такой как таблетка, массой приблизительно 532 мг, содержащую гидрофильный агент, электролит, агент,

модифицирующий высвобождение, инертный наполнитель и предварительную смесь пробиотиков, получали, как показано в таблице 8. Используемый гидрофильный агент представляет собой ГПМЦ или ПЭО. Используемый электролит представляет собой NaHCO_3 . Используемый модифицирующий высвобождение агент представляет собой

пектин, а используемый инертный наполнитель представляет собой МКЦ. Пробиотик, используемый в этом примере, состоит из предварительной лиофилизированной порошковой смеси бифидобактерий и крахмала. Стеариновую кислоту включают в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, а диоксид кремния используют в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, и осушителя. Куркуму включают в качестве красителя.

Как показано на фиг. 6, результаты этого примера демонстрируют диапазон для контролируемого высвобождения пробиотиков в течение длительного периода. Также показано, что контролируемое высвобождение из гидрофильной матрицы имеет профиль, подходящий для доставки ВС, который в данном случае состоит из бифидобактерий, через 8 часов. Такой пример был бы пригодный для доставки бифидобактерий в нижние отделы кишечника и за пределы нижних отделов кишечника.

Таблица 8

| Лекарственные формы (мг) | F2 | F3 |
|--------------------------------------|-----|-----|
| Предварительная смесь бифидобактерий | 150 | 150 |
| ГПМЦ | 150 | 0 |
| ПЭО | 0 | 150 |
| Пектин | 100 | 100 |
| NaHCO_3 | 100 | 100 |
| Стеариновая кислота | 16 | 16 |
| Диоксид кремния | 16 | 16 |
| ОБЩАЯ МАССА | 532 | 532 |

Пример 9

Отдельные стороны двухслойной лекарственной формы, такой как таблетка, массой приблизительно 684 мг и 342 мг, соответственно, содержащие гидрофильный агент, электролит, агент, модифицирующий высвобождение, инертный наполнитель и предварительную смесь пробиотиков, получали, как показано в таблице 9.

Используемый гидрофильный агент представляет собой ГПМЦ. Используемый электролит представляет собой NaHCO_3 . Используемый модифицирующий высвобождение агент представляет собой пектин. В этом примере используемая предварительная смесь пробиотиков состоит из предварительной лиофилизированной порошковой смеси молочнокислых бактерий и крахмала. Стеариновую кислоту включают в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, а диоксид кремния используют в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, и осушителя.

Результаты этого примера, представленные на фиг. 7, демонстрируют, что объединение гидрофильного агента, электролита и агента, модифицирующего высвобождение дает возможность регулировать геометрическую масштабируемость, форму таблетки, размер и объем, при этом контролируя высвобождение пробиотика из системы доставки, представляющей собой гидрофильную матрицу, и лекарственной формы в виде монолитной таблетки. Такая гибкость изменения лекарственной формы особенно эффективна при производстве, когда необходимо изменение объема состава, особенно изменение формы и размера таблеток.

Таблица 9

| Лекарственные формы (мг) | H1 | H2 |
|--|-----|-----|
| Предварительная смесь молочнокислых бактерий | 75 | 150 |
| Пектин | 50 | 100 |
| ГПМЦ | 50 | 100 |
| NaHCO ₃ | 50 | 100 |
| Гуаровая камедь | 100 | 200 |
| Стеариновая кислота | 8 | 16 |
| Диоксид кремния | 8 | 16 |
| Куркума | 1 | 2 |
| ОБЩАЯ МАССА | 342 | 684 |

Пример 10

Одну сторону двухслойной лекарственной формы, такой как таблетка, массой приблизительно 684 мг, содержащую гидрофильный агент, электролит, агент, модифицирующий высвобождение, инертный наполнитель и предварительную смесь пробиотиков, получали, как показано в таблице 10. Используемый гидрофильный агент представляет собой ГПМЦ. Используемый электролит представляет собой NaHCO₃. Используемый модифицирующий высвобождение агент представляет собой пектин, а используемый инертный наполнитель представляет собой МКЦ. В этом примере используемые пробиотики состоят из предварительной лиофилизированной порошковой смеси молочнокислых бактерий и крахмала. Стеариновую кислоту включают в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, а диоксид кремния используют в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, и осушителя. Куркуму включают в качестве красителя.

Результаты этого примера, представленные на фиг. 8, демонстрируют применение высушивания вспомогательных веществ предварительной смеси до таблетирования (I2) по сравнению с невысушенной предварительной смесью (I1) для двух одинаковых составов. Полезное влияние высушивания подтверждается увеличением КОЕ жизнеспособных молочнокислых бактерий или пробиотиков, доставляемых при использовании высушенной предварительной смеси I2 по сравнению с невысушенной предварительной смесью I1.

Таблица 10

| Лекарственные формы (мг) | I1 | I2 |
|--|-----|-----|
| Предварительная смесь молочнокислых бактерий | 150 | 150 |
| ГПМЦ | 100 | 100 |
| Пектин | 100 | 100 |
| NaH(CO ₃) ₂ | 100 | 100 |
| МКЦ | 200 | 200 |
| Стеариновая кислота | 8 | 8 |
| Диоксид кремния | 8 | 8 |
| Куркума | 2 | 2 |
| ОБЩАЯ МАССА | 684 | 684 |

Пример 11

Одну сторону двухслойной лекарственной формы, такой как таблетка, массой приблизительно 532 мг, содержащую гидрофильный агент, электролит, агент, модифицирующий высвобождение, инертный наполнитель и предварительную смесь пробиотиков, получали, как показано в таблице 11. Используемый гидрофильный агент представляет собой ГПМЦ с вязкостью 4000 мПа (H1) или 15000 мПа (H2). Используемый электролит представляет собой NaHCO₃. Используемый модифицирующий высвобождение агент представляет собой пектин, а используемый инертный наполнитель представляет собой МКЦ. Предварительная смесь пробиотиков,

используемая в этом примере, состоит из предварительной лиофилизированной порошковой смеси бифидобактерий и крахмала. Стеариновую кислоту включают в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, а диоксид кремния используют в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, и осушителя. Куркуму включают в качестве красителя.

Как показано на фиг. 9, результаты этого примера демонстрируют диапазон для различного контролируемого высвобождения жизнеспособных пробиотиков при применении гидрофильных агентов с различными вязкостями.

Таблица 11

| Лекарственные формы (мг) | H1 | H2 |
|--|-----|-----|
| Предварительная смесь молочнокислых бактерий | 75 | 75 |
| ГПМЦ, 4000 мПа | 50 | 0 |
| ГПМЦ, 15000 мПа | 0 | 50 |
| Пектин | 50 | 50 |
| NaHCO ₃ | 50 | 50 |
| МКЦ | 100 | 100 |
| Стеариновая кислота | 8 | 8 |
| Диоксид кремния | 8 | 8 |
| Куркума | 1 | 1 |
| ОБЩАЯ МАССА | 342 | 342 |

Пример 12

Одну сторону двухслойной лекарственной формы, такой как таблетка, массой приблизительно 343 мг, содержащую гидрофильный агент, электролит, агент, модифицирующий высвобождение, инертный наполнитель и предварительную смесь пробиотиков, получали, как показано в таблице 12. Используемый гидрофильный агент представляет собой ГПМЦ. Используемый электролит представляет собой NaHCO₃. Используемый модифицирующий высвобождение агент представляет собой пектин, а используемый инертный наполнитель представляет собой МКЦ. В этом примере используемая предварительная смесь пробиотиков состоит из предварительной лиофилизированной порошковой смеси молочнокислых бактерий и крахмала. Стеариновую кислоту включают в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, а диоксид кремния используют в качестве агента, обеспечивающего сыпучесть, и осушителя. Куркуму включают в качестве красителя.

Как показано на фиг. 10, результаты этого примера демонстрируют диапазон для повышенной стабильности с течением времени, когда состав хранили при температуре окружающей среды (25°C, относительная влажность 60%), что подтверждается относительно постоянным количеством КОЕ жизнеспособных молочнокислых бактерий.

Таблица 12

| Лекарственные формы (мг) | K1 |
|--|-----|
| Предварительная смесь молочнокислых бактерий | 75 |
| ГПМЦ | 50 |
| Пектин | 50 |
| NaHCO ₃ | 50 |
| МКЦ | 100 |
| Стеариновая кислота | 8 |
| Диоксид кремния | 8 |
| Куркума | 2 |
| ОБЩАЯ МАССА | 343 |

Вышеприведенное обсуждение является описательным, иллюстративным и пояснительным, и его не следует рассматривать, как ограничивающее объем, определяемый прилагаемой формулой изобретения.

(57) Формула изобретения

1. Многослойная лекарственная форма для целевой доставки пробиотиков, включающая первый слой и второй слой, причем каждый слой содержит один или более различных пробиотиков совместно с одним или более вспомогательных компонентов состава, где слои делят один или более одинаковых вспомогательных компонентов состава, где состав представлен в виде прессованной двухслойной таблеточной лекарственной формы или прессованной двухслойной лекарственной формы в виде каплеты, и причем каждый из первого и второго слоев образует отдельную сторону лекарственной формы.

2. Многослойная лекарственная форма по п.1, в которой один или несколько одинаковых вспомогательных компонентов состава являются общими, причем относительное процентное (весовое) количество каждого общего компонента в каждом слое находится в пределах 20 мас.% количества в другом слое.

3. Многослойная лекарственная форма по любому из пп.1 или 2, в которой относительные количества по массе первого слоя и второго слоя варьируются от 60 мас.% : 40 мас.% до 70 мас.% : 30 мас.% .

4. Многослойная лекарственная форма по любому из пп.1-3, в которой один или несколько вспомогательных компонентов состава выбраны из гидрофильного агента, компонента для защиты пробиотической массы от вредного воздействия желудочной кислоты, компонента для изменения нужным образом контролируемого высвобождения пробиотиков и электролита,

где компонент для изменения нужным образом контролируемого высвобождения пробиотиков выбран из одного или нескольких из альгината, полисахаридов, гуаровой камеди, ксантановой камеди, пектина, гетерогенных белковых смесей, полипептидов, полисахаридов, альгинатной соли, галактоманнанных камедей, полиэтиленовых производных, полиэтиленгликоля и гидролизованых белков.

5. Многослойная лекарственная форма по п.4, в которой один или несколько отдельных слоев включают 5-40 мас.% гидрофильного агента, 5-40 мас.% компонента для изменения нужным образом контролируемого высвобождения пробиотиков и 1-40 мас.% электролита.

6. Многослойная лекарственная форма по любому из предшествующих пунктов, где состав включает компоненты для защиты пробиотической массы от вредного воздействия желудочной кислоты, выбранные из одного или более из следующих веществ: карбоната натрия, гидрокарбоната натрия и фосфата натрия.

7. Многослойная лекарственная форма по любому из пп.4-6, в которой гидрофильный агент выбран из одного или нескольких из крахмалов, гидрофильной камеди, производных целлюлозы, полисахаридов, галактоманнанных, диоксида кремния, силиката алюминия, силиката магния, алюмосиликата магния, гидроксида алюминия, белка, полимеров, гидрофильных полимеров, гидроксипропилметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы или камеди, такой как гуаровая камедь, причем необязательно гидрофильный агент также представляет собой связующее, выбранное из одного или нескольких из гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ), микрокристаллической целлюлозы (МКЦ), гуаровой камеди и пектина.

8. Многослойная лекарственная форма по любому из предшествующих пунктов, где

первый слой содержит один или более пробиотиков, происходящих из родов *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* и *Streptococcus*, а второй слой содержит один или более пробиотиков, происходящих из родов *Bacteroides*, *Bifidobacterium* и *Eubacterium*.

9. Многослойная лекарственная форма по п. 1, в которой все пробиотики в первом слое отличаются от пробиотиков во втором слое.

10. Многослойная лекарственная форма по любому из предшествующих пунктов, содержащая пробиотик, выбранный из группы, состоящей из членов родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Bacterioides* и их частей, фрагментов, компонентов, белков или продуктов жизнедеятельности, причем необязательно пробиотик содержит супероксиддисмутазу (СОД).

11. Способ получения лекарственной формы по любому из предшествующих пунктов, включающий стадии

приготовления составов, содержащих различные пробиотики в каждом из первого слоя и второго слоя;

прессования первого слоя и второго слоя; и

получения прессованной двухслойной лекарственной формы в виде таблетки или прессованной двухслойной лекарственной формы в виде каплеты.

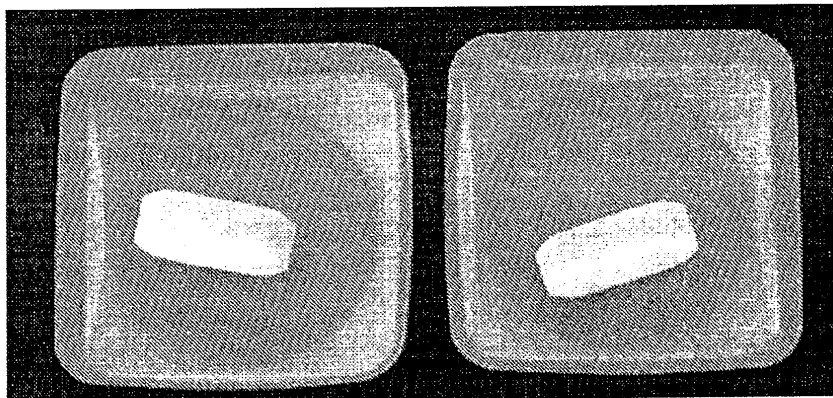
12. Способ по п. 11, дополнительно включающий стадию, в которой предварительно прессуют один из первого слоя и второго слоя.

13. Многослойная лекарственная форма по п. 1 для использования в качестве лекарственного препарата.

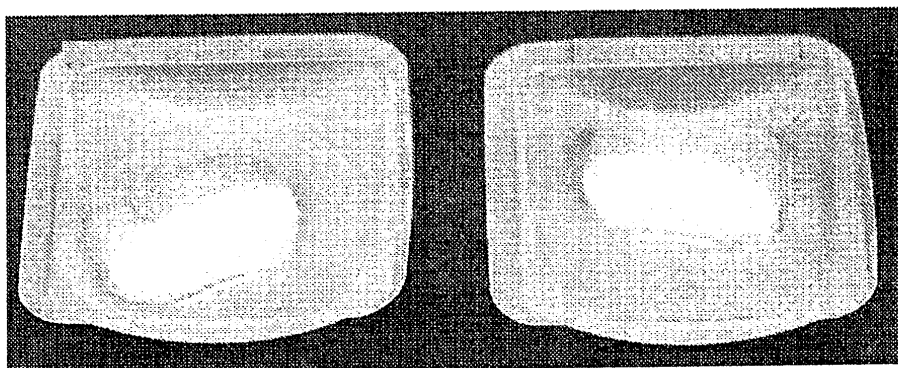
14. Многослойная лекарственная форма по п.13, где указанная многослойная лекарственная форма обеспечивает высвобождение первого пробиотика в верхний отдел желудочно-кишечного тракта; и

обеспечивает высвобождение второго пробиотика в нижний отдел желудочно-кишечного тракта.

1

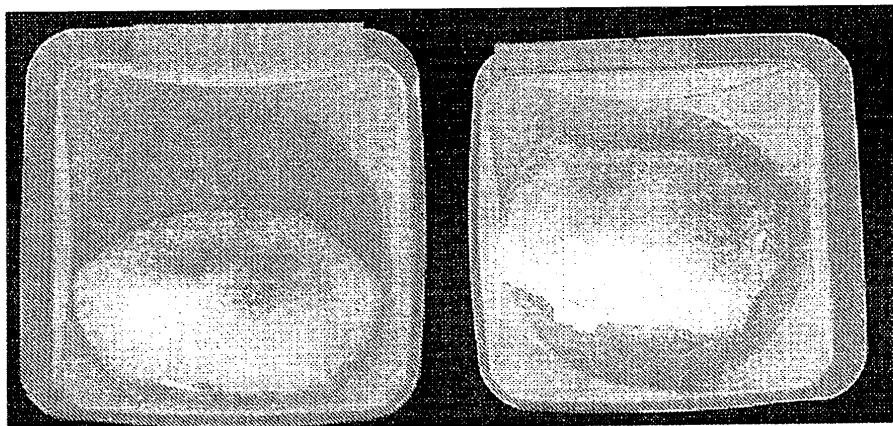


Фигура 1А

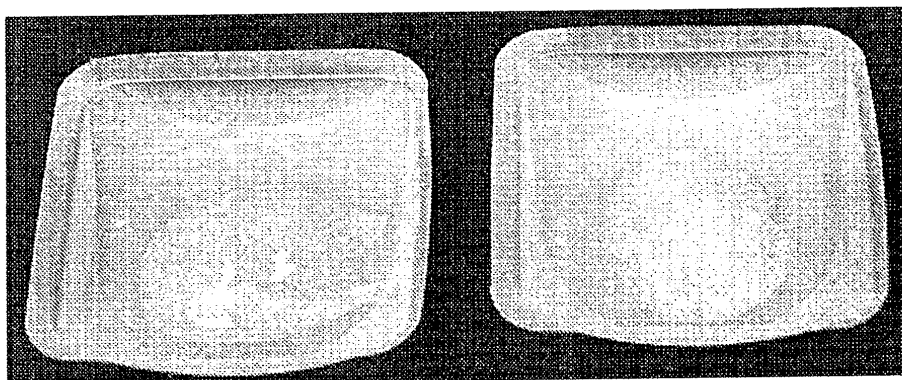


Фигура 1В

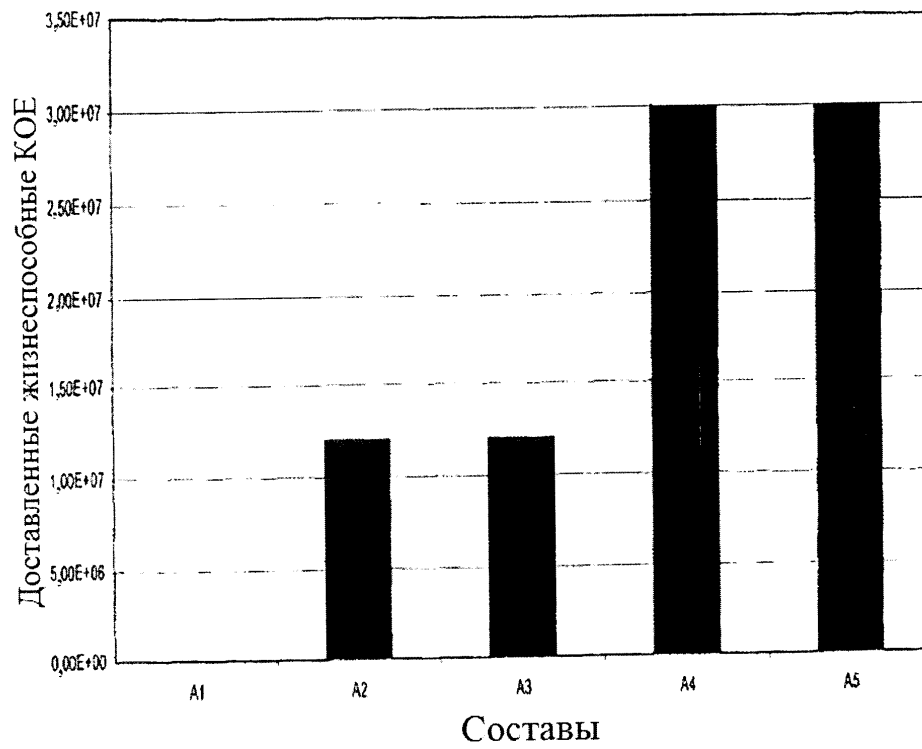
2



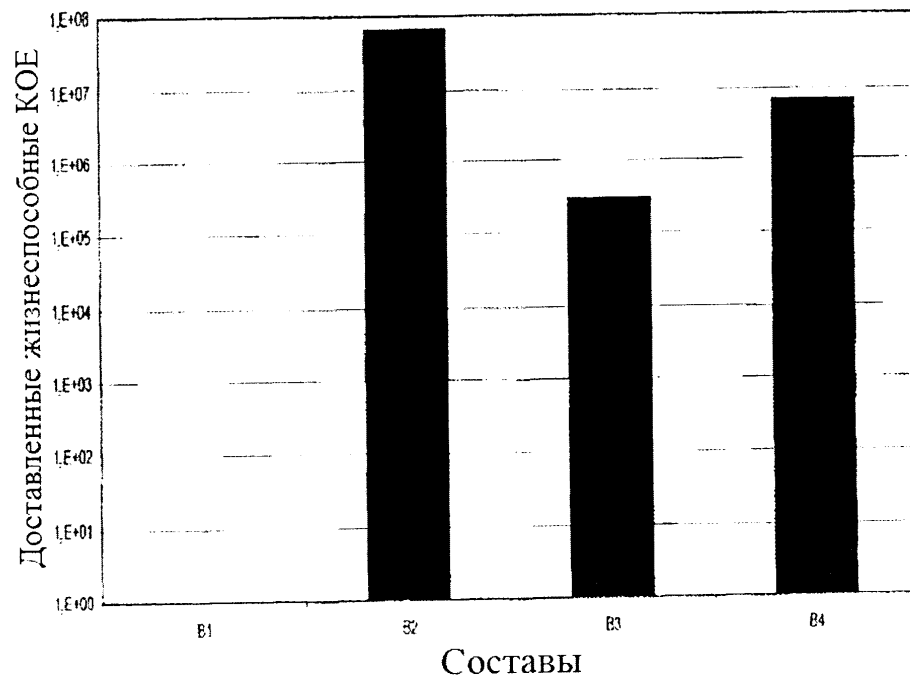
Фигура 1С



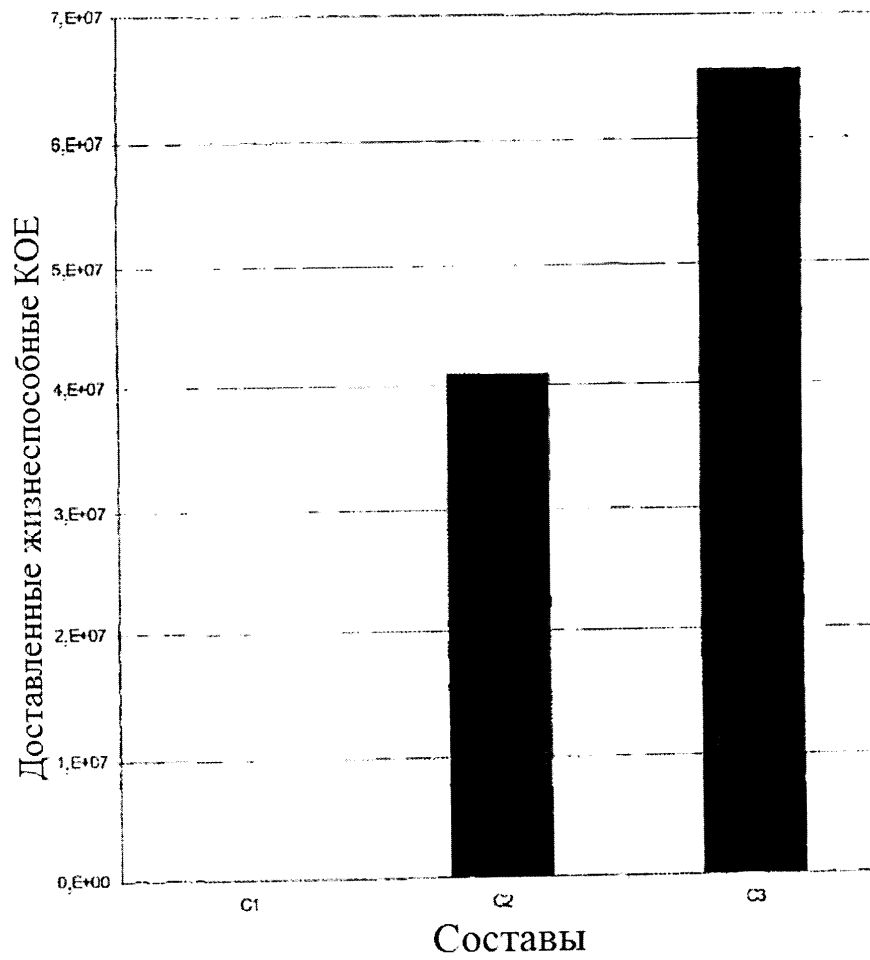
Фигура 1D



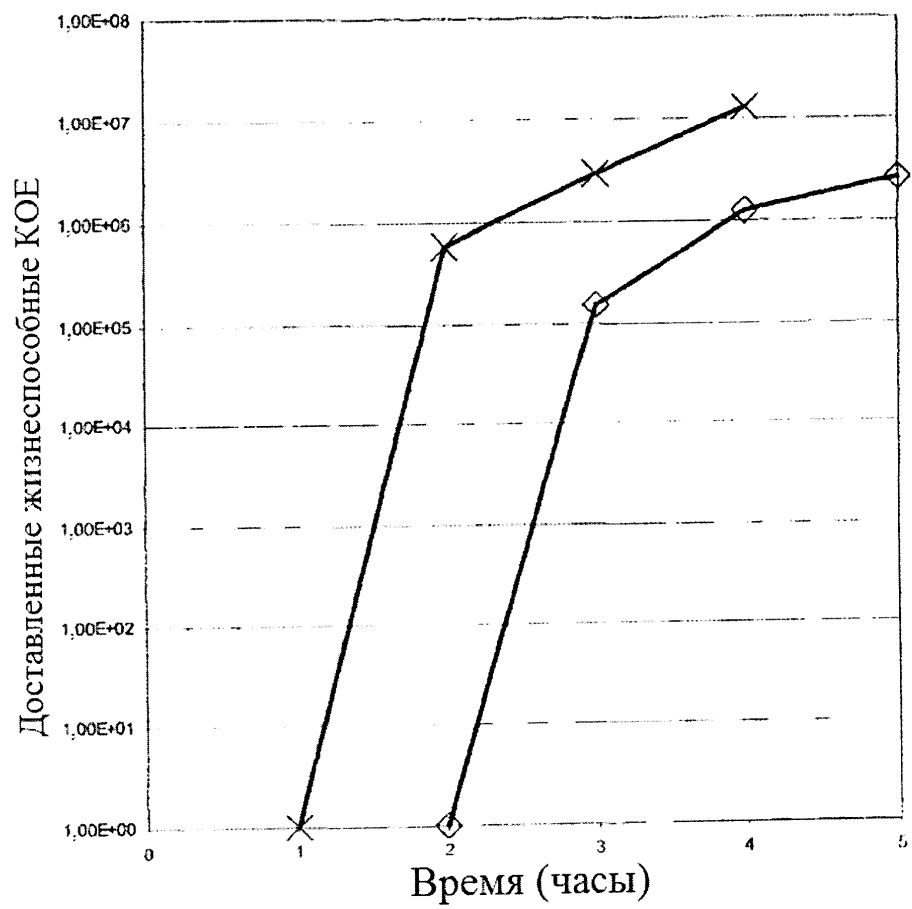
Фигура 2
(Известный уровень техники)



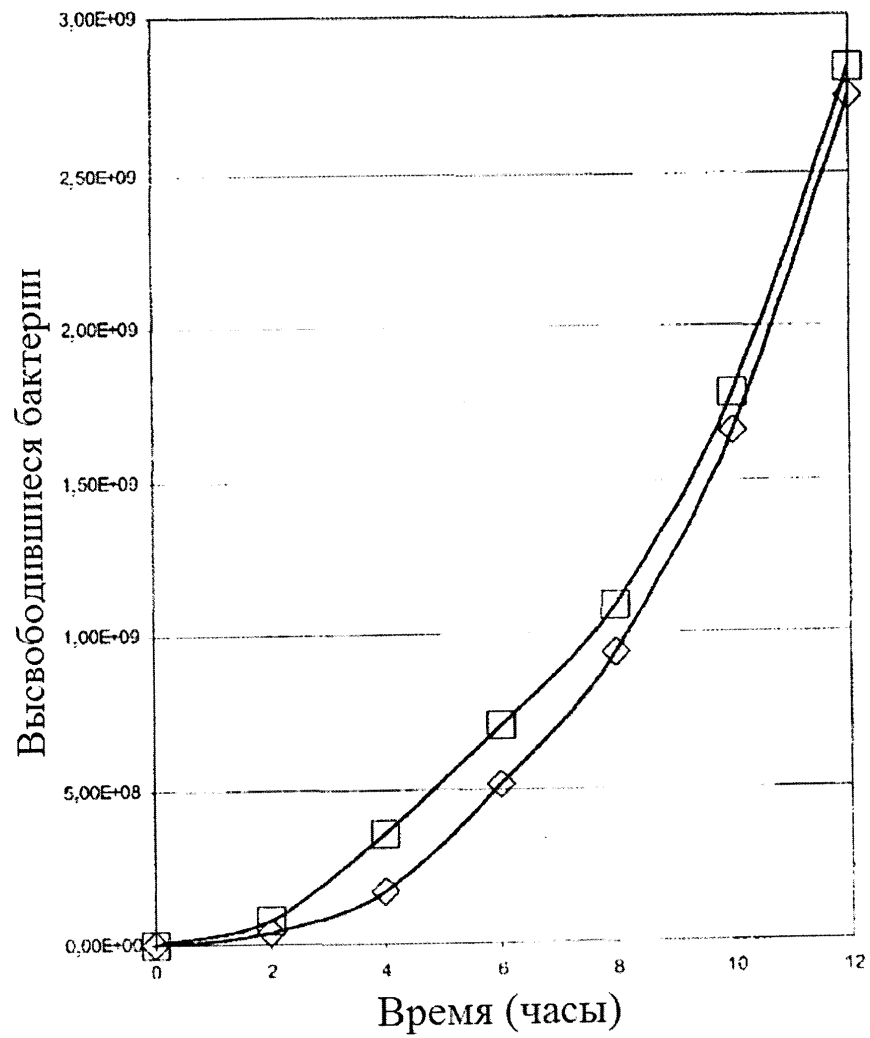
Фигура 3
(Известный уровень техники)



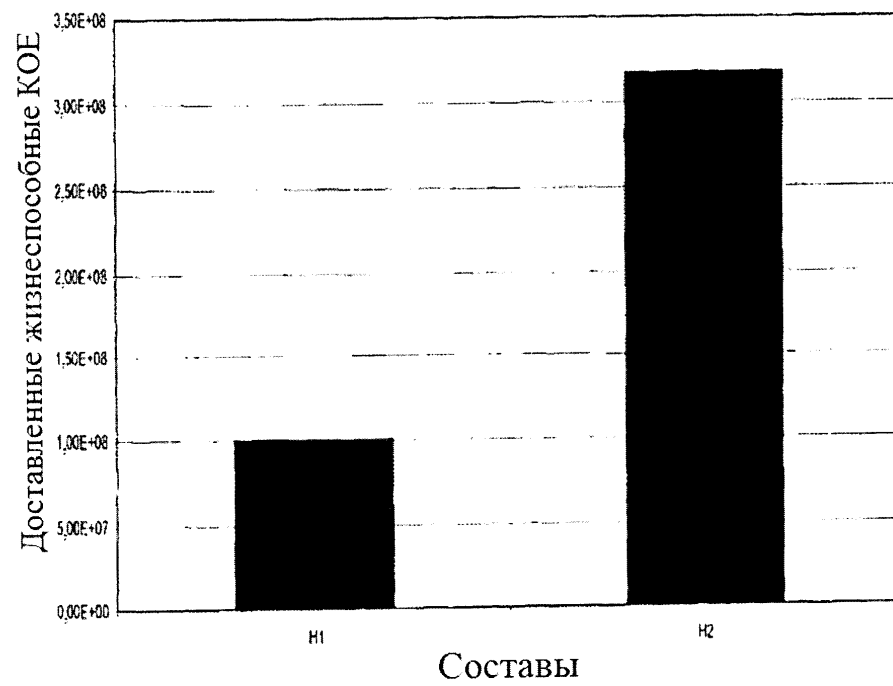
Фигура 4
(Известный уровень техники)



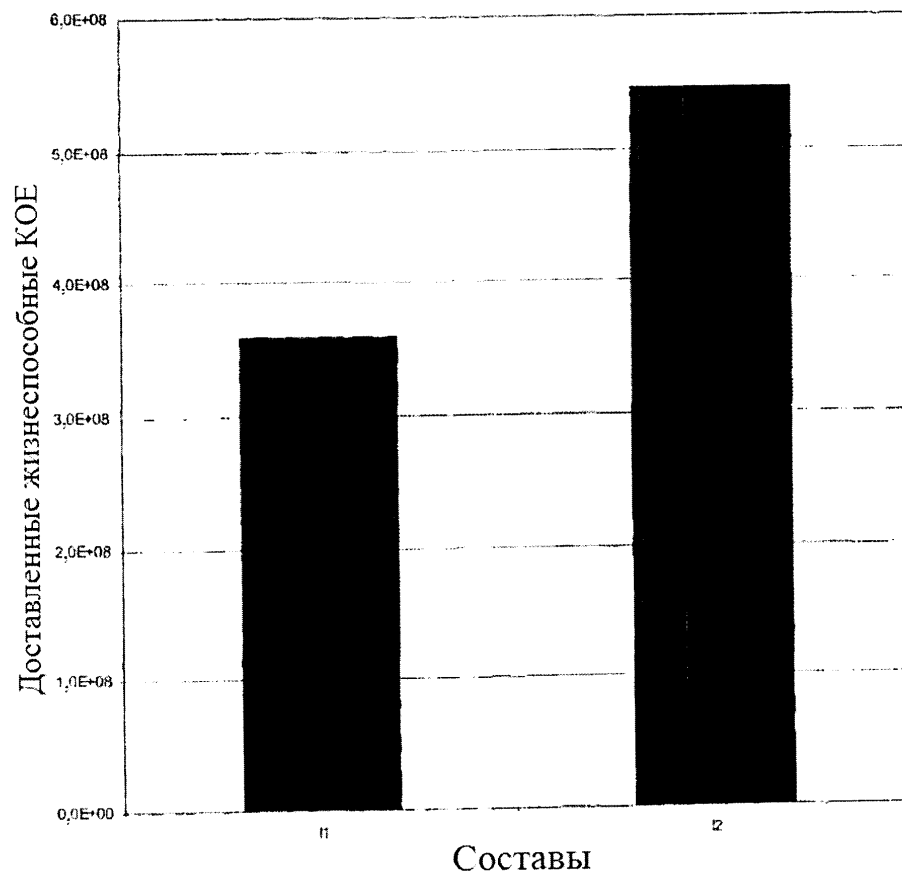
Фигура 5
(Известный уровень техники)



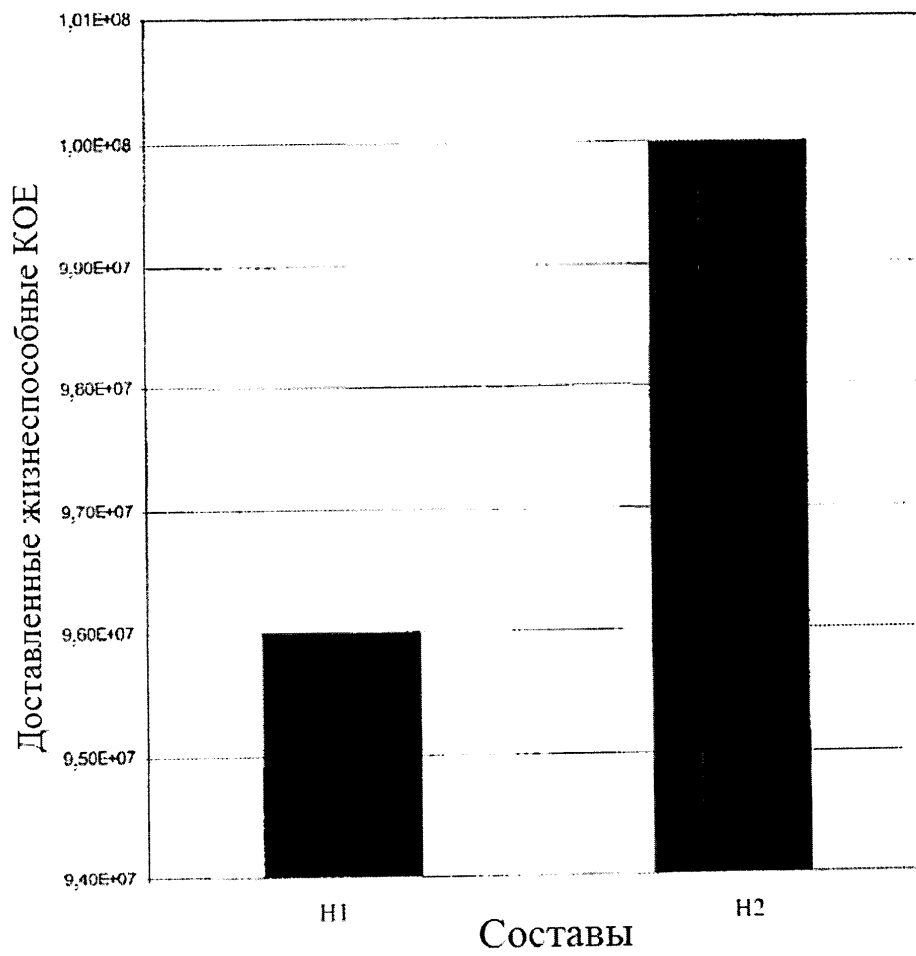
Фигура 6
(Известный уровень техники)



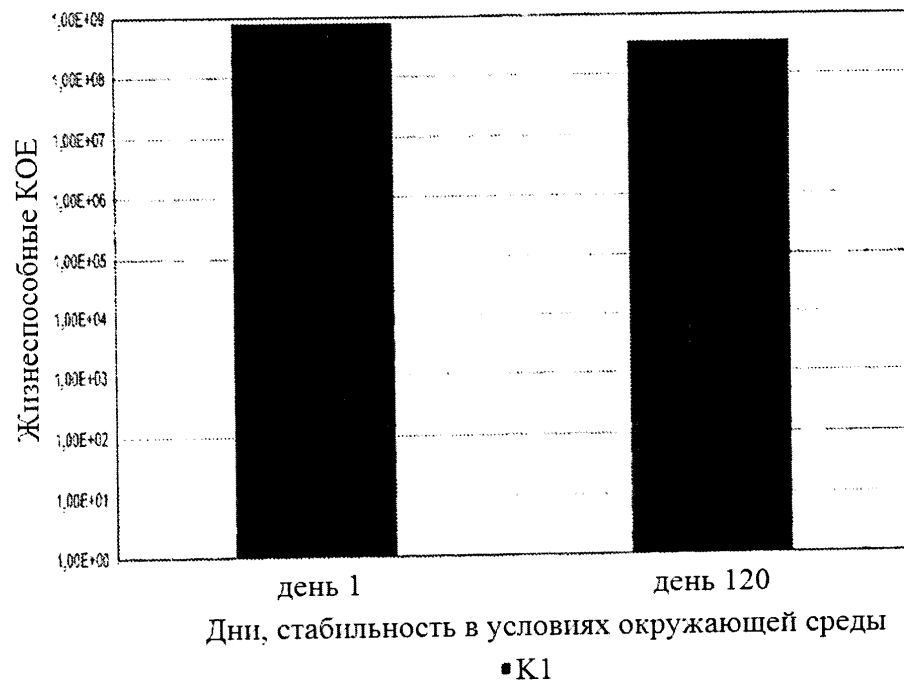
Фигура 7
(Известный уровень техники)



Фигура 8
(Известный уровень техники)



Фигура 9
(Известный уровень техники)



Фигура 10
(Известный уровень техники)