

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 17, №4

2018



УДК 615.07:615.014.047

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕПЕНИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ 2-ЭТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА ИЗ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ГЕЛЯ МЕТОДОМ ДИАЛИЗА

© **Гладкая Ю.В., Лосенкова С.О.**

Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28

Резюме

Разработка новых интраназальных лекарственных форм, позволяющих обеспечивать общее системное действие на организм, в частности, с антиоксидантной, антигипоксантной и нейротропной активностью является актуальным направлением в фармацевтической практике и комбинированной терапии острых ишемических нарушений головного кровообращения.

Цель. Исследовать степень высвобождения 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината из 2,5% интраназальных гелей, изготовленных в лабораторных условиях с применением различных гелеобразователей.

Методы. Биофармацевтическое исследование *in vitro* методом диализа через полупроницаемую мембрану с последующим определением вещества в диализате спектрофотометрически при определенной длине волны. Объектами исследования служили гелевые композиции с 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинатом (мексидол), приготовленные согласно технологической схеме, разработанной авторами с применением магнитной мешалки и источника низкочастотного ультразвука, используемого для обеспечения стерильности. Полученные данные статистически обработали в программе «Statgraphics Plus 5.0».

Результаты. Авторы определили степень высвобождения 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината из трёх различных гелевых композиций. По полученным данным построили кинетические кривые высвобождения и провели их анализ, на основании которого, выбрали оптимальный состав гелевой композиции.

Заключение. Среди разработанных составов наиболее оптимальным с точки зрения степени высвобождения является: Мексидол 2,5, Натрия метабисульфит 0,5, Карбопол 940 4,0, Натрия гидроксид 0,1М 4,6, Поливиниловый спирт 1,0, Воды очищенной до 100,0.

Ключевые слова: интраназальная лекарственная форма, 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат, интраназальный гидрогель, гелеобразователи, биофармацевтический метод *in vitro*, биофармацевтическое исследование.

BIOPHARMACEUTICAL STUDY OF THE DEGREE OF 2-ETHYL-6-METHYL-3-HYDROXYPYRIDINE SUCCINATE FROM INTRANASAL GEL BY DIALYSIS

Gladkaya Y.V., Losenkova S.O.

Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., 214019, Smolensk, Russia

Abstract

The development of new intranasal dosage forms, allowing to provide a general systemic effect on the body, with antioxidant, antihypoxant and neurotropic activity in particular is a relevant area in pharmaceutical practice and combined therapy of acute ischemic disorders of cerebral circulation.

Objective. To study the degree of release of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate from 2.5% intranasal gels made in laboratory conditions using various gelling agents.

Methods. *In vitro* biopharmaceutical study by dialysis through a semi-impermeable membrane with subsequent determination of the dialysate substance was performed spectrophotometrically at a specific wavelength. The objects of the study were gel compositions with 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (Mexidol) prepared according to the technological scheme developed by the authors using a magnetic stirrer and ultrasound. The obtained data were statistically processed with the "Statgraphics Plus 5.0" program.

Results. The authors determined the degree of release of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate from three different gel compositions. According to the data obtained, the kinetic release curves were constructed and analyzed, based on which, the optimal gel composition was selected.

Conclusion. Among the formulations developed, the most optimal in terms of the degree of release are: Mexidol 2.5, Sodium metabisulfite 0.5, Carbopol 940 4.0, Sodium hydroxide 0.1 M 4.6, Polyvinyl alcohol 1.0, Purified Water to 100.0.

Keywords: intranasal dosage form, 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate, intranasal hydrogel, gelling agents, biopharmaceutical dialysis method, biopharmaceutical study

Введение

В течение нескольких десятилетий медицинское и фармацевтическое сообщество проявляет особый интерес к интраназальным лекарственным формам как новому способу неинвазивной доставки медикаментов [5]. Слизистая оболочка носа обладает рядом значительных преимуществ, связанных с анатомическими и гистологическими особенностями её строения, что может быть использовано для методик целевой доставки лекарственных препаратов в ткани мозга и различные системы организма [7].

Мексидол – отечественный препарат, производное 3-оксипиридина, антиоксидант и мембранопротектор с чрезвычайно широким спектром фармакологической активности, в основе которой лежит способность влиять на универсальные механизмы регуляции функциональной и метаболической активности клеток. Мексидол умеренно опасен при поступлении внутрь, малотоксичен при парентеральном введении, обладает кумулятивным действием, не оказывает раздражающего действия на слизистые носоглотки, вызывает слабое раздражающее действие на слизистые оболочки глаз [2]. На данный момент мексидол зарегистрирован в лекарственных формах: таблетки, покрытые пленочной оболочкой 0,125, раствор для инъекций 5% для внутримышечного и внутривенного введения. Для таблетированной формы препарата характерна более низкая биодоступность, прохождение через желудочно-кишечный тракт, тогда как, основным недостатком инъекционного способа введения является болезненность в месте введения, необходимость присутствия медицинского персонала и ряд других.

Высокая чувствительность нервной ткани к нарушениям кровоснабжения и относительно легкая поражаемость ее сосудистой системы объясняет причину частых циркуляторных расстройств функций головного мозга. Большая частота поражений мозга и высокая летальность, тяжесть течения и частота инвалидизации населения делает проблему комбинированной терапии острых ишемических нарушений мозгового кровообращения, а также реабилитации больных, перенесших инсульт, важнейшей и социально значимой.

Разработка новых интраназальных лекарственных форм, позволяющих обеспечивать общее системное действие на организм, в частности, с антиоксидантной, антигипоксантами и нейротропной активностью является актуальным направлением в фармацевтической практике. На сегодняшний день фармацевтическая промышленность выпускает достаточно ограниченное количество лекарственных форм, предназначенных для интраназального использования [5]. К ним можно отнести: капли, спреи, аэрозоли, мази (гели, собственно мази, кремы, линименты).

Среди представленных лекарственных форм особый интерес представляют интраназальные гели. В соответствии с данными Государственной фармакопеи РФ XIII издания, гели – это мази, в которых для получения основы используются гелеобразователи природного и синтетического происхождения [1]. Они обладают упругопластичной консистенцией и способны сохранять свою форму. Основными преимуществами гелей являются: пролонгированное действие, наличие увлажняющего действия на слизистую оболочку, гипоаллергенность, высокая биодоступность, выраженное системное действие, не оставляют следов при нанесении.

Биофармацевтические эксперименты *in vitro* позволяют решить ряд существенных вопросов, связанных с установлением фармацевтических факторов, влияющих на скорость и полноту высвобождения действующего вещества из разрабатываемой лекарственной формы. В свою очередь, быстрая и полная высвобождаемость в экспериментах *in vitro* дает основание предполагать высокую биодоступность в экспериментах *in vivo*.

При создании мягких лекарственных форм изучение биофармацевтических показателей позволяет определить роль вспомогательных веществ (формообразователей, пластификаторов и т.д.) в фармакотерапевтической активности лекарственных препаратов.

Цель исследования – провести сравнительное биофармацевтическое изучение различных композиций гидрогелей.

Методика

Объектами исследования являлись изготовленные на основании данных проведенного обзора литературы гелевые композиции с мексидолом, состав которых представлен в табл. 1. При выборе гелеобразователей учитывали, следующие основные требования: биосовместимость со слизистыми оболочками и кожей, химическая индифферентность по отношению к веществам, входящим в состав, обеспечение необходимой биодоступности лекарственного средства при его минимальной концентрации, соответствие по формообразующим свойствам, микробная чистота, отсутствие запаха, цвета и вкуса [3]. Кроме того, для всех выбранных гелеобразователей характерно: безопасность, отсутствие раздражающего эффекта на слизистые оболочки, полная биодеградация, разрыхляющие действие на эпителий слизистой оболочки носа, стабильность.

Таблица 1. Составы гелевых композиций с мексидолом для проведения биофармацевтического исследования методом диализа

Компоненты, г	Составы гелевых композиций		
	№1	№2	№3
Мексидол, ЗАО «Обнинская химико-фармацевтическая компания»	2,5	2,5	2,5
Натрия метабисульфит	0,5	0,5	0,5
Поливиниловый спирт	-	1,0	-
Нипагин	1,0	-	1,0
Карбопол-940	-	4,0	-
Альгиновая кислота	3,0	-	-
Хитозан	-	-	4,0
Натрия гидроксид 0,1М	-	4,6	-
Кислота хлористоводородная 0,1М	-	-	5,0
Вода очищенная	93,0	87,6	87,0

Готовили гели в лабораторных условиях по разработанной авторами технологической схеме производства, используя для перемешивания магнитную мешалку с функцией нагрева и ультразвук для обеспечения стерильности лекарственной формы. В первом случае в половинном количестве воды растворяли определенное количество мексидола, натрия метабисульфита и нипагина, альгиновую кислоту растворяли в оставшемся количестве воды, нагретой до 60 °С, затем соединяли оба раствора и ставили на магнитную мешалку с использованием нагрева до 60 °С. Во втором случае в половинном количестве воды растворяли мексидол, натрия метабисульфит. Поливиниловый спирт заливали оставшимся количеством воды и оставляли до набухания, затем ставили на магнитную мешалку при нагреве до 80 °С до полного растворения, добавили половинное количества натрия гидроксида 0,1М, затем ввели Карбопол 940 и при помешивании нейтрализовали карбопол оставшимся количеством натрия гидроксида. В третьем случае в воде растворяли мексидол, натрия метабисульфит, нипагин, добавляли кислоту хлористоводородную и хитозан, устанавливали на магнитную мешалку при нагреве до 70 °С. Далее для обеспечения стерильности и гомогенизации гели обрабатывали ультразвуком непосредственно в первичной упаковке в течение 30 секунд на частоте 25 кГц при помощи установки медицинской УРСК-7н с волноводом-концентратором.

Для определения влияния вспомогательных веществ на скорость высвобождения мексидола из гелевых композиций использован метод диализа через полупроницаемую мембрану. Нами использована диализная пленка марки «Купрофан» по свойствам и структуре близкая к натуральным мембранам, с длительным сроком хранения и использования, с большой рабочей поверхностью, с размером пор 45 мкм. На внутреннюю поверхность мембраны равномерным слоем наносили навеску исследуемого образца геля 1,00 г (точная навеска, содержащая 0,025 г мексидола), которую затем неподвижно закрепляли на конце диализной трубки. Диализную трубку вносили в химический стакан с диализной средой и погружали на глубину не более 3 мм. В качестве среды для диализа использован изотонический раствор натрия хлорида (50 мл). Процесс диализа проводился при температуре 37±0,5° С. Отбор проб диализата (3,0 мл) осуществлялся через 15 мин., 30 мин., 45 мин., 1, 1,5, 2, 3, 4, 5 ч. с немедленным возвращением в диализат взятого объема растворителя. В водном растворе при температуре 37±0,5° С мексидол гидролизует с образованием продуктов, имеющих два максимума поглощения при 248±2 нм и 325±3 нм в

диапазоне волн 240-340 нм. Мексидол стабилен в 0,01М растворе кислоты хлористоводородной. Поэтому далее 3,0 мл диализата помещали в мерную колбу на 25 мл и доводили до метки 0,01М раствором кислоты хлористоводородной. Полученное разведение анализировали спектрофотометрически в диапазоне волн 240-340 нм [2]. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ 2000-02 в максимуме поглощения (297±3 нм). Толщина слоя 10 мм. Раствором сравнения служил диализат контрольных образцов соответствующей гелевой композиции без мексидола. Для определения количественного содержания мексидола в пробе использовали следующую формулу [1]:

$$\frac{(D_1 - D_2) \times a \times V_1 \times V_{PCO} \times P}{D_0 \times V_0 \times V \times V_3} = \frac{(D_1 - D_2) \times 0,1 \times 25 \text{ мл} \times 1 \text{ мл} \times 50 \text{ мл}}{D_0 \times 1 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 3 \text{ мл}}$$

Примечание: D1 – оптическая плотность диализата опытного образца; D2 – оптическая плотность диализата контрольного образца; а – навеска РСО мексидола в граммах (0,1); V1 – объём разведения исследуемого образца (25 мл); P – объём среды диализата (50 мл); D0 – оптическая плотность раствора РСО мексидола; V, V0 – объёмы разведения РСО мексидола, мл; V_{PCO} – навеска разведения РСО, мл; Vд – объём навески диализата (3,0 мл).

Определения среднестатистического отклонения рассчитывали с использованием статистической программы Statgraphics Plus 5.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты биофармацевтического исследования представлены в табл. 2. Анализируя полученные результаты, можно наблюдать, что характер и степень высвобождения лекарственного вещества в исследуемых образцах достоверно отличаются между собой уже через 30 мин. наблюдения.

Таблица 2. Результаты биофармацевтического исследования методом диализа степени высвобождения мексидола из гелевых композиций

Гелевая композиция	Время наблюдения								
	15 мин.	30 мин.	45 мин.	1 ч.	1.5 ч.	2 ч.	3 ч.	4 ч.	5 ч.
№1	18,32% ±0,02	37,68% ±0,04	54,96% ±0,12	73,28% ±0,21	82,72% ±0,3	92,15% ±0,41	99,21% ±0,52	99,98% ±0,63	99,74% ±0,74
№2	24,49% ±0,07	46,81% ±0,08	73,47% ±0,16	93,75% ±0,41	94,21% ±0,32	94,67% ±0,63	97,66% ±0,62	99,41%± 0,72	98,82% ±0,82
№3	21,37% 0±0,09	41,64% ±0,1	64,11% ±0,34	85,48% ±0,28	86,37% ±0,41	87,25% ±0,74	98,89% ±0,72	99,96% ±0,81	99,82% ±0,9

Далее с использованием полученных данных были построены кинетические кривые высвобождения мексидола из гелевых композиций, которые показаны на рис. 1.

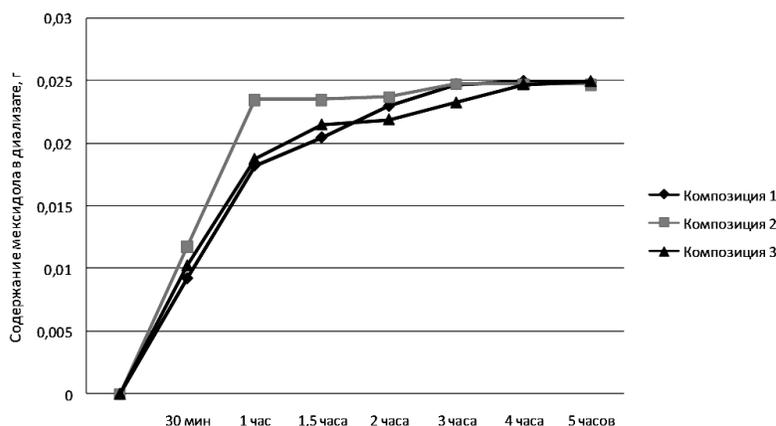


Рис. 1. Кинетические кривые высвобождения мексидола из 3-х различных гелевых композиций. Как видно из данных табл. 2, скорость высвобождения мексидола из гелевой композиции №2 несколько превышает таковую для составов №1 и №3. Установлено, что в течении первых 30 мин. из композиции №2 в диализную среду продиффундировало примерно половина содержащегося в

ней мексидола – $46,8\% \pm 0,08$. В то время как из композиций 1 и 3 за первые полчаса высвободилось $37,7\% \pm 0,04$ и $41,6\% \pm 0,1$ соответственно.

Наиболее пролонгированный характер высвобождения наблюдался из второго гелевого состава, в котором в качестве гелеобразователя выступает карбопол-940. Об этом свидетельствуют и кинетические кривые высвобождения (рис. 1), на графике можно наблюдать формирование плато пролонгации через 1 ч. наблюдения до максимального высвобождения мексидола, которое зарегистрировано через 4 ч. с начала исследования. Через 5 ч. после начала исследования концентрация действующего вещества в диализате снизилась на 0,6% от максимальной.

Важную роль в фармацевтической практике производства гелей играют гидрогели. Опираясь на название данного варианта гелевых структур, можно сделать вывод о том, что основной их состав является вода очищенная. Так некоторые гидрогели могут иметь в своем составе около 90% воды от общего содержания веществ. Они обладают высокой степенью биосовместимости и считаются одними из наиболее оптимальных лекарственных форм, предназначенных для нанесения на поверхность слизистых оболочек [6]. Оптимальная степень высвобождения действующего вещества в композиции №2 обусловлена входящим в состав гелеобразователем – карбопол-940. На сегодняшний день эта группа занимает особое место среди всего разнообразия гелеобразующих компонентов в фармации. Гели карбопола не оказывают раздражающего и сенсibiliзирующего действия. Фармакопейная статья на карбопол под названием «Карбомер» включена в фармакопеи Британии, Франции, Международную фармакопею [3].

Обосновать полученный результат также можно химической и пространственной структурой выбранного гидрогеля. Ядром гидрогелей, образованных карбополом, является полимерная система, которая может быть сформирована в результате физического или химического сшивания гомополимеров или сополимеров, которые при взаимодействии с водной фазой набухают [4]. То есть, при диспергировании в воде кросс-сшитые алкиловые кислоты (карбопол) начинают раскручиваться – это и есть стадия набухания. Далее идет стадия нейтрализации, во время которой создается отрицательный заряд вдоль основной цепи. Возникающая сила отталкивания отрицательных зарядов превращает цепочку полимера в развернутую структуру, в результате чего происходит гелеобразование. После проведения нейтрализации частицы карбопола увеличиваются в 10 раз. На конечную вязкость геля влияют три параметра: концентрация карбопола, pH и степень образования водородных связей [7].

Гидрогели на основе карбопола представляют собой трехмерную комплексную систему, сетчатая структура полимера которой обладает способностью связываться с большим количеством воды или раствора, в состав которого заключено лекарственное средство. Пористая природа данной формы позволяет осуществлять удерживание активного вещества и коллоидных частиц в связанном состоянии и проявлять равномерное высвобождение действующих компонентов [8].

Заключение

Таким образом, в результате проведенного биофармацевтического исследования методом диализа разработанных авторами гелевых композиций в экспериментах *in vitro* было установлено, что среди исследуемых составов оптимальным является следующий: Мексидол 2,5, Натрия метабисульфит 0,5, Карбопол-940 4,0, Натрия гидроксид 0,1М 4,6, Поливиниловый спирт 1,0, Воды очищенной до 100,0. Состав изготовлен согласно технологической схеме, разработанной авторами с применением магнитной мешалки и источника низкочастотного ультразвука, используемого для обеспечения стерильности.

Литература (references)

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIII издание. Общая Фармакопейная Статья. 1.4.1.0008.15 Мази. – Москва, 2015. – 1292 с. [*Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii XIII izdanie. Obshchaya Farmakopejnaya Stat'ya. 1.4.1.0008.15 Mazi. – Moskva, 2015. – 1292 s. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition. General Pharmacopoeia Article.1.4.1.0008.15 Ointment. – Moscow, 2015. – 1292 p. (in Russian)*]
2. Лосенкова С.О., Степанова Э.Ф., Новиков В.Е. Особенности методики биофармацевтического исследования трансдермального пластыря с мексидолом // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия, биология, фармация. – 2009. – №1 – С. 113-116. [Losenkova S.O., Stepanova

- EF, Novikov V.E.. // *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta* Features of the methods of biopharmaceutical research transdermal patch with mexidol // Ambassador Voronezh State University. Series: Chemistry, Biology, Pharmacy. – 2009. – N1. – P. 113-116. (in Russian)]
3. Лосенкова С.О., Степанова Э.Ф. Вспомогательные вещества в технологии чрезкожных систем доставки лекарственных средств Учебное пособие – Смоленск, Смоленская государственная медицинская академия. – 2009. – 78 с. [Losenkova S.O., Stepanova E.F. Vspomogatel'nye veshchestva v tekhnologii chrezkozhnyh sistem dostavki lekarstvennyh sredstv. Auxiliary substances in the technology of percutaneous drug delivery systems: Smolensk, Smolensk State Medical Academy. – 2009 – 78 p. (in Russian)]
 4. Мука Б., Зирко А., Демин М. Полимеры Carbopol™ в качестве функциональных гелеобразователей // Фармацевтическая отрасль. – 2018. – №1(66) – С. 110-113. [Muca B., Zirko A., Demin M. // *Farmaceuticheskaya otrasl'* Polymers Carbopol™ as functional gelling agents Pharmaceutical industry. – 2018. – N1(66) – P. 110-113. (in Russian)]
 5. Ali Akhtar, Prajapati Sunil Kumar, Devendra Singh et al. Enhanced bioavailability of drugs via intranasal drug delivey system // *International Research Journal of Pharmacy*. – 2012. – P. 68-74.
 6. Kushwaha K.S, Keshari R.K, Rai A.K. Advances in nasal trans-mucosal drug delivery. // *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. – 2011. – N1(07). – P. 21-28.
 7. Katdare A., Chaubal M.V., Excipient Development for Pharmaceutical Biotechnology and Drug Delivery Systems // Taylor and Francis Group, Limited liability company, USA. – 2006 – N441. – P. 37-44.
 8. Labarre D, Ponchel G, Vauthier C. Biomedical and Pharmaceutical Polymers // Pharmaceutical Press, London. – 2010. – 173 p.

Информация об авторах

Лосенкова Светлана Олеговна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: losenkova-so@mail.ru

Гладкая Юлия Владиславовна – преподаватель кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: jennylofer.93@mail.ru