

УДК 615.454.1

3.4.1 Промышленная фармация и технология получения лекарств

DOI: 10.37903/vsgma.2022.2.21 EDN: HLCRDN

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА ИЗ КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ PSORALEA CORYLIFOLIA

© Ярковой М.А., Струсовская О.Г.

*Волгоградский государственный медицинский университет, 400131, Россия, Волгоград, площадь Павших Борцов, 1**Резюме*

Цель. Разработка состава и технологии фотосенсибилизирующего геля на основе экстракта каллусной ткани *Psoralea corylifolia* для применения в ПУВА-терапии дерматологических проявлений псориаза.

Методика. Технологические параметры исследуемых гелевых композиций определяли, изучая коллоидную и термическую стабильность. Реологические характеристики определяли на ротационном вискозиметре «Brookfield RVDV II+Pro» (США). Для исследования биологической доступности готовили модельные смеси, в которые добавляли 0,1% стандартного образца псоралена. Биофармацевтические свойства модельных смесей изучали методом равновесного диализа по Кривчинскому. Количественное определение псоралена проводили методом УФ-спектрофотометрии.

Результаты. В результате проведенных исследований было установлено, что оптимальной является гелевая композиция состава: натрия альгината – 3,0 г, глицерина – 18,0 г, воды – до 100,0 г, в которую вводили экстракт каллусной ткани *Psoralea corylifolia*, содержащий сумму фурукумаринов в количестве, эквивалентном 0,1% псоралена.

Заключение. На основании проведенных реологических и биофармацевтических исследований разработаны состав и технология получения фотосенсибилизирующего геля на основе извлечения из каллусной ткани *P. corylifolia*, возможного для применения в ПУВА-терапии дерматологических проявлений псориаза.

Ключевые слова: фотосенсибилизирующий гель, технология, биофармацевтические исследования

DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF A PHOTO-SENSITIZING GEL BASED ON PSORALEA CORYLIFOLIA CALLUS TISSUE EXTRACT

Yarkovoy M.A., Strusovskaya O.G.

Volgograd State Medical University, 1, Pl. Pavshikh Bortsov Square, Volgograd, 400131, Russia

Objective. The aim of the study was to develop the composition and technology of a photosensitizing gel based on an extract of *Psoralea corylifolia* callus tissue for use in PUVA therapy for dermatological manifestations of psoriasis.

Methods. The technological parameters of the studied gel compositions were determined by studying the colloidal and thermal stability. The rheological characteristics were determined on a Brookfield RVDV II+Pro rotational viscometer (USA). To study the bioavailability, model mixtures were prepared, to which 0.1% of the standard sample of psoralen was added. The biopharmaceutical properties of the model mixtures were studied by the equilibrium dialysis method according to Krivchinsky. Quantitative determination of psoralen was carried out by UV spectrophotometry.

Results. As a result of the studies, it was found that the optimal is the gel composition of the composition: sodium alginate – 3.0 g, glycerol – 18.0 g, water – up to 100.0 g, into which the extract of *Psoralea corylifolia* callus tissue was introduced, containing the amount of furocoumarins in an amount equivalent to 0.1% psoralen.

Conclusion. Based on the conducted rheological and biopharmaceutical studies, the composition and technology for obtaining a photosensitizing gel based on the extraction of *P. corylifolia* from callus tissue, which can be used in PUVA therapy for dermatological manifestations of psoriasis, has been developed.

Keywords: Gel, extraction, biopharmaceutical research, stability

Введение

Одним из социально-значимых дерматозов современности является псориаз. В патогенезе псориаза ведущую роль занимает нарушение главной функции кожи — кератинизации, которая обусловлена изменением пролиферации, и дифференцировки кератиноцитов [5]. Псориазом страдает каждый 25-й человек на планете, что составляет от 2 до 7% всего населения [8]. В России за период 2010-2019 гг. произошел рост распространенности заболевания среди всего населения на 14%, среди детей в возрасте 0-17 лет — на 10% [3]. Экспоненциальный рост заболеваемости данной патологией обусловлен рядом факторов, таких как психоэмоциональное перенапряжение, инфекционные агенты, травмы, избыточная масса тела [6].

Одним из основных методов терапии дерматологических проявлений псориаза является фотохимиотерапия (ПУВА — псорален и ультрафиолет А) — сочетанное применение длинноволнового ультрафиолетового облучения с фотосенсибилизаторами (псорален) при длинах волн 320-420 нм, эффективность которой составляет 80-90% [4].

Псорален в сочетании с другими фурукумаринами входит в состав импортных лекарственных препаратов фотосенсибилизирующего действия, таких, как «Псорален», «Псоберан» и «Ламадин», но и они не имеют регистрации в ГРЛС (Государственном реестре лекарственных средств). На территории РФ зарегистрированы и разрешены для медицинского применения только два препарата «Оксаролен» в форме капсул и «Аммифурин» в форме раствора и таблеток, имеющие ограничения по применению (детский возраст до 18 лет). Для возможности обеспечения широких слоев населения новым эффективным отечественным препаратом для проведения ПУВА-терапии, нами был разработан гель на основе экстракта каллусной ткани *Psoralea corylifolia*, полученный нами ранее [9]. Преимуществом гелей, как лекарственной формы для дерматологического применения, являются легкость нанесения, распределения и тиксотропность. Среди гелей особую группу составляют гидрогели, отличающиеся тем, что их образуют полимеры, структура которых представляет собой поперечно сшитые трехмерные сетки, способные удерживать значительные количества воды [11], что приобретает особое значение при разработке фотосенсибилизирующего геля для проведения ПУВА-терапии, нежелательными эффектами при проведении которой, в том числе, являются зуд, раздражение, сухость кожи [1, 6, 11].

Целью исследования являлась разработка состава и технологии фотосенсибилизирующего геля на основе экстракта каллусной ткани *Psoralea corylifolia* для применения в ПУВА-терапии дерматологических проявлений псориаза.

Методика

Для выбора оптимальной гелевой основы исследовали гелеобразующие соединения, такие как метилцеллюлоза МЦ, натрий-карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ), натрия альгинат и, традиционно использующийся, поливиниловый спирт (ПВС). В качестве пластификатора в гелевые основы вводили глицерин.

Для определения коллоидной стабильности исследуемых гелевых композиций (ГК) использовали лабораторную центрифугу «MPW-251» («MPW Med. Instruments», Польша). Навески ГК в количестве 5,0 г вносили в центрифужные пробирки и центрифугировали при 6000 об/мин в течение 5 мин.

Термическую стабильность ГК определяли в условиях резко меняющихся температур. С этой целью исследуемые образцы термостатировали в течение 7 суток при температуре +40°C – + 42°C с последующим выдерживанием при температуре + 8°C в течение 7 дней, и дальнейшем хранении при комнатной температуре (+ 23°C) в течение трех суток. В ходе исследований проводили визуальную оценку изучаемых образцов.

Реологические характеристики ГК определяли на ротационном вискозиметре «Brookfield RVDV П+Pro» (США). С этой целью использовали шпиндели различных номеров (RV02-07), которые вращали в исследуемом образце при 12 последовательно увеличивающихся скоростях сдвига от 5 с⁻¹ до 100 с⁻¹.

Для определения биологической доступности готовили модельные смеси анализируемых ГК, в которые добавляли 0,1% СО псоралена (Sigma Aldrich, США). Вводимое количество препарата было регламентировано фармакологической активностью псоралена в концентрации, используемой во всех существующих лекарственных формах, содержащих препарат. Биофармацевтические свойства исследуемых модельных смесей определяли методом равновесного диализа по Кривчинскому [7]. Диализ проводили при температуре +37°C ± 1°C через полупроницаемую мембрану, в качестве которой применяли целлофан марки «Купрофан», на которую наносили исследуемые модельные смеси в количестве 0,4 г. В качестве акцепторной среды использовали воду очищенную (вода). Исследования проводили в течение 21 часа, для чего отбирали аликвоты акцепторной среды через каждые 3 часа эксперимента в количестве 1,0 мл, переносили в мерные колбы вместимостью 5,0 мл и доводили объем раствора в колбах водой до метки.

Количественное определение диффундировавшего псоралена определяли методом УФ-спектрофотометрии. В качестве раствора сравнения использовали воду. Содержание псоралена в акцепторной среде рассчитывали по СО по формуле:

$$C_x = \frac{a_{ст} \cdot V_{ст} \cdot W_x \cdot A_x}{W_{1ст} \cdot W_{2ст} \cdot a_x \cdot A_{ст}} \quad (1), \text{ где}$$

$a_{ст}$ – навеска СО псоралена, г; $W_{ст}$ – мерные колбы для приготовления раствора СО псоралена, мл; a_x – аликвота диализата, мл; W_x – объем мерной колбы для приготовления раствора диализата, мл; A_x – оптическая плотность раствора диализата; $A_{ст}$ – оптическая плотность раствора СО псоралена.

Результаты и обсуждение исследования

Для проведения исследований были отобраны наиболее часто используемые ГК, которые готовили при соотношениях компонентов, представленных в табл. 1.

Таблица 1. Компонентные составы исследуемых гелевых композиций

Наименование компонента/ масса, г	Номер ГК							
	1	2	3	4	5	6	7	8
глицерин	20,0	20,0	18,0	20,0	20,0	18,0	5,0	-
МЦ	3,0	6,0	-	-	-	-	-	-
Na-КМЦ	-	-	5,0	7,0	-	-	-	-
Na-альгинат	-	-	-	-	7,0	3,0	-	-
ПВС	-	-	-	-	-	-	5,0	3,0
ПЭО-400	-	-	-	-	-	-	-	4,0
вода	до 100,0							

На начальном этапе осуществляли выбор ГК по результатам определения коллоидной и термической стабильности. В ходе проведенных исследований было установлено, что ГК №№1, 3 кинетически и агрегативно неустойчивы – после центрифугирования наблюдалось отделение жидкой фазы.

При определении термической стабильности было зафиксировано расслоение фаз ГК №№ 7 и 5. Таким образом, для дальнейшего изучения были выбраны ГК №№ 2, 4, 6 и 8.

В ходе определения зависимости динамической вязкости от скорости сдвига (рис. 1) было установлено, что отобранные ГК являются неньютоновскими (псевдопластичными) жидкостями, вязкость которых снижается при увеличении скорости сдвига в результате деструкции.

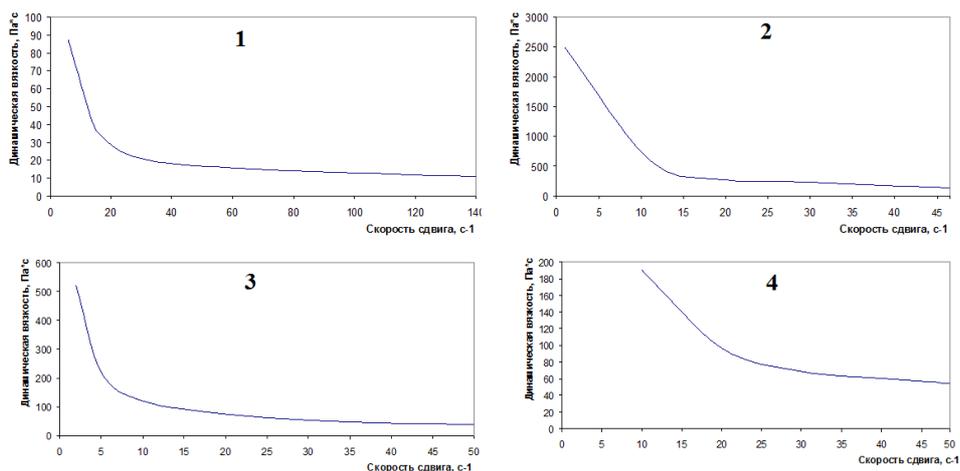


Рис. 1. Зависимость динамической вязкости исследуемых ГК от скорости сдвига. 1 – ГК №2; 2 – ГК №6; 3 – ГК №4; 4 – ГК №8

Для определения реологических характеристик исследуемых ГК строили графики зависимости напряжения сдвига от градиента приложенной скорости (рис. 2), что позволило судить о типе течения системы и о наличии тиксотропных свойств анализируемых ГК.

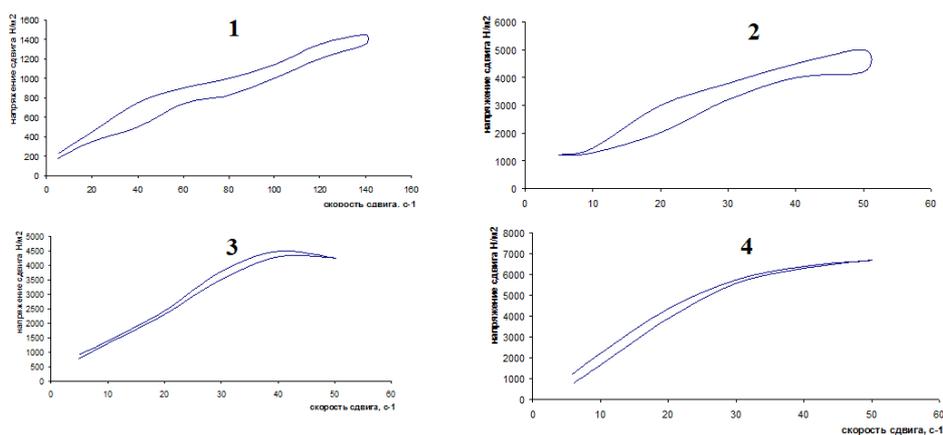


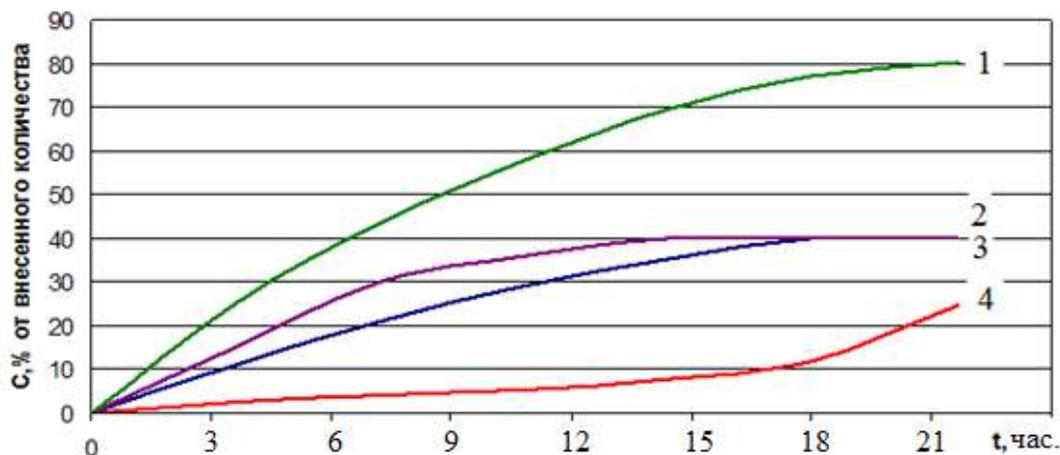
Рис. 2. Реограммы течения исследуемых ГК. 1 – ГК №2; 2 – ГК №6; 3 – ГК №4; 4 – ГК №8

Представленная на графиках (рис. 2) зависимость во всех случаях имеет нелинейный характер. Восходящая и нисходящая кривые образуют петлю гистерезиса, что указывает на наличие в исследуемых ГК тиксотропных связей, способных к восстановлению после разрушения системы. Таким образом, было установлено, что все анализируемые ГК обладают тиксотропными свойствами. Большей площади петли гистерезиса соответствует большая степень тиксотропности. Поэтому, при выборе ГК для получения фотосенсибилизирующего геля руководствовались данным показателем. В соответствии с результатами реологических исследований наибольшие площади гистерезиса соответствовали ГК №2 и №6.

По результатам, полученным в ходе изучения диализа псоралена из исследуемых модельных смесей через полупроницаемую мембрану, строили кривые диализа в системе координат время – процентное содержание псоралена от внесенного количества (рис. 3).

В результате проведенных расчетов было установлено, что площадь под кривой диализа псоралена из модельной смеси на основе ГК №6 составляет 3895,6 мм², что более чем в 6 раз превосходит данный показатель для модельной смеси на основе ГК №4 (615,3 мм²) и примерно в два раза больше значений, полученных для ГК №2 и №8 (1986,4 мм²; 1954,8 мм² соответственно),

что свидетельствует о большей биологической доступности псоралена в модельной смеси на основе ГК №6.



Рису. 3. Кривые диализа псоралена из модельных смесей на основе исследуемых гелевых композиций. 1 – на основе ГК №6; 2 – на основе ГК №2, 3 – на основе ГК №8; 4 – на основе ГК №4

Таким образом, в ходе проведенных исследований было установлено, что полученная ГК№6 обладает стабильно пластичными свойствами, легка в нанесении и распределении по поверхности, ее тиксотропные свойства позволяют обеспечивать полное восстановление структуры после приложенных напряжений, возникающих в ходе технологического процесса изготовления мягких лекарственных форм. Отсутствие проявлений коагуляции, уплотнения, помутнения, разжижения или расслоения при центрифугировании, нагревании и охлаждении свидетельствуют о коллоидной и термической стабильности. Результаты биофармацевтических исследований демонстрируют максимальную скорость и полноту высвобождения псоралена из модельной смеси на ее основе. Следовательно, ГК состава натрия альгината – 3,0 г, глицерина – 18,0 г, воды – до 100,0 г может быть использована для получения фотосенсибилизирующего геля.

Полученные данные позволили разработать технологию фотосенсибилизирующего геля на основе экстракта каллусной ткани *P. corylifolia*. Которая заключалась в следующем: Навеску 3,0 г натрия альгината помещают во взвешенную фарфоровую ступку, прибавляют 30,0 мл воды, с растворенным в ней консервантом* и оставляют для набухания полимера на 1 ч. К экстракту, содержащему сумму фурукумаринов, эквивалентную 0,1 г псоралена, прибавляют 10,0 мл воды и 18,0 г глицерина, перемешивают. Полученную смесь добавляют к гелевой основе при непрерывном перемешивании до получения однородной консистенции. К полученной смеси добавляют воду до получения массы геля равной 100,0 г и снова перемешивают. Полученный гель оставляют еще на 3 ч. и снова перемешивают до получения прозрачной однородной массы желтоватого цвета.

Технологическая схема, получения фотосенсибилизирующего геля включает традиционные стадии получения мягких лекарственных форм (рис. 4):

ВР 1. Подготовка сырья и материалов; ВР 2. Подготовка ингредиентов; ТП 3. Получение геля; УМО 4. Фасовка и упаковка готовой продукции. Стадия ТП 3 состоит из трех этапов: ТП 3.1. Приготовление гелевой основы: гелевую основу готовят в реакторе с механической мешалкой. Для этого в реактор загружают натрия альгинат, затем порциями при постоянном перемешивании при скорости вращения мешалки 80-120 об/мин добавляют раствор консерванта в количестве воды, составляющем 1/3 запланированного объема и оставляют для набухания полимера. ТП 3.2. Введение экстракта каллусной ткани *P. corylifolia* и пластификатора. Через 1 час в реакторе включают мешалку и поддерживая перемешивание со скоростью 80-120 об/мин, добавляют глицерин и экстракт каллуса *P. corylifolia*. ТП 3.3. Введение остатка отмеренного количества воды при непрерывном перемешивании до образования однородной прозрачной массы гелеобразной консистенции. Готовую продукцию фасуют в алюминиевые тубы по 25 или 50 г.

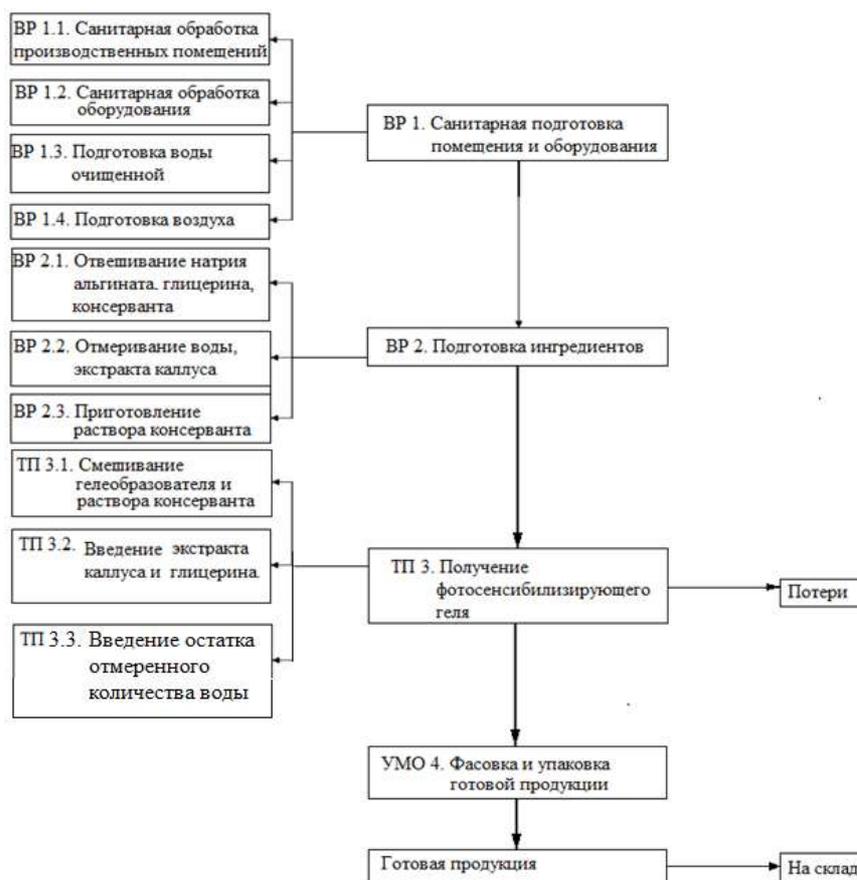


Рис. 4. Технологическая схема получения фотосенсибилизирующего геля

Заключение

Изучены консистентные свойства, коллоидная и термическая стабильность восьми гидрогелевых композиций, в результате чего для дальнейших исследований отобраны ГК на основе МЦ, Na-КМЦ, натрия альгината и ПВС. По результатам определения реологических и биофармацевтических характеристик установлено, что преимущественной для получения фотосенсибилизирующего геля на основе экстракта каллусной ткани *P. corylifolia* является основа, содержащая в качестве гелеобразователя натрия альгинат с введением пластификатора – глицерина в количестве 18%. Разработана технология получения и технологическая схема фотосенсибилизирующего геля на основе экстракта каллусной ткани *P. Corylifolia*.

Литература (references)

1. Бакулев А.Л., Насонов Е.Л., Коротаева, Т.В., Логинова, Е.Ю. и др. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных псориазом // Москва. – 2013. – С. 68. [Bakulev A.L., Nasonov E.L., Korotaeva T.V., Loginova E.Yu. Federal guidelines for the treatment of patients with psoriasis // Moscow. – 2013. – P. 68. (in Russian)].
2. Бакулев А.Л., Тальникова Е.Е. Псориаз в педиатрической практике // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – Т.19. – №.6. – С. 496-499. [Bakulev A.L., Talnikova E.E. Psoriasis in pediatric practice // Questions of modern pediatrics. – 2020. – V.19. – N.6. – P. 496-499. (in Russian)].
3. Болевич С.Б., Уразалина А.А. Псориаз: современный взгляд на этиопатогенез // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2013. – Т.2. – №.42. – С. 202-206. [Bolevich S.B., Urazalina A.A. Psoriasis: a modern view on etiopathogenesis // Bulletin of the Russian Military Medical Academy. – 2013. – V.2. – N.42. – P. 202-206. (in Russian)].

4. Жилова М.Б., Волнухин В.А. Фототерапия псориаза: основные механизмы действия //Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2014. – Т. 17. – №. 6. – С. 32-36. [Zhilova M.B., Volnukhin V.A. Phototherapy of psoriasis: main mechanisms of action // Russian journal of skin and venereal diseases. – 2014. – V. 17. – N. 6. – P. 32-36. (in Russian)].
5. Понич Е.С., Соколовский Е.В., Круглова Л. С. Применение фотодинамической терапии при недостаточном эффекте блокаторов фактора некроза опухоли при псориазе //Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2016. – Т.15. – №. 4. – С. 188-190. [Ponich E.S., Sokolovsky E.V., Kruglova L.S. The use of photodynamic therapy with insufficient effect of tumor necrosis factor blockers in psoriasis // Physiotherapy, balneology and rehabilitation. – 2016. – T. 15. – N. 4. – P. 188-190. (in Russian)].
6. Тлиш М.М., Осмоловская П.С. Красный плоский лишай. Современные методы терапии: систематический обзор // Кубанский научный медицинский вестник. – 2021. – Т. 28. – №. 2. – С. 104-119. [Tlish M.M., Osmolovskaya P.S. Lichen planus. Modern methods of therapy: a systematic review // Kuban Scientific Medical Bulletin. – 2021. – V. 28. – N. 2. – P. 104-119. (in Russian)].
7. Хаджиева З.Д., Чумакова В.А., Губанова Л.Б. Изучение биодоступности гелей фексофенадина в опытах in vitro //Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №. 1-2. – С. 236-236. [Khadzhieva Z.D., Chumakova V.A., Gubanova L.B. Study of the bioavailability of fexofenadine gels in in vitro experiments // Modern problems of science and education. – 2015. – N. 1-2. – P. 236-236. (in Russian)].
8. Хамаганова И.В., Алмазова А.А., Лебедева Г.А., Ермаченко А.В. Проблемы эпидемиологии псориаза // Klinicheskaya Dermatologia I Venerologia. – 2015. – №. 1. – С. 12–16. [Khamaganova I.V., Almazova A.A., Lebedeva G.A., Ermachenko A.V. Problems of the epidemiology of psoriasis //Klinicheskaya Dermatology I Venerologia. – 2015. – N. 1. – P. 12-16. (in Russian)].
9. Ярковой М.А., Струсовская О.Г. Разработка способа определения суммы производных фурукумарина в извлечениях из каллусной ткани psoralea corylifolia, L // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. – 2021. – С. 148-154. [Yarkovoy M.A., Strusovskaya O.G. Development of a method for determining the amount of furocoumarin derivatives in extracts from the callus tissue of psoralea corylifolia, L // Development, research and marketing of new pharmaceutical products. – 2021. – P. 148-154. (in Russian)].
10. Kuchekar A. B. Pujari R.R., Kuchekar S.B., Dhole S.N., et al. Psoriasis: A comprehensive review // International Journal of pharmacy & life sciences. – 2011. – V. 2. – N. 6. – P. 857-877.
11. Mi F.L., Shyu S.S., Peng C.K. Characterization of ring-opening polymerization of genipin and pH-dependent cross-linking reactions between chitosan and genipin // Journal of polymer science Part A Polymer Chemistry. – 2005. – V.43. – P.1985-2000.

Информация об авторах

Ярковой Максим Андреевич – ассистент кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: yarkovoi2017@yandex.ru

Струсовская Ольга Геннадьевна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: Strol3@yandex.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.