

Рекомендована д.ф.н., професором В.І.Чуєшовим

УДК 615.454.2:616.147.17 — 007.64:543.42.062

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПРИРОДИ І СКЛАДУ ОСНОВИ НА ВИВІЛЬНЕННЯ СУКЦИФЕНАТУ ТА ДІАКАМФУ ІЗ СУПОЗИТОРІЇВ

Н.А.Кондратюк, В.О.Грудько, Д.І.Дмитрієвський, С.І.Мерзлікін

Національний фармацевтичний університет

Досліджено кінетику вивільнення *in vitro* сукцифенату та діакаμφу із різних за природою і складом супозиторних основ за допомогою методів дифузії в агар та рівноважного діалізу через напівпроникну мембрану. Для реєстрації концентрації досліджуваних речовин у діалізаті розроблено методику спектрофотометричного визначення сукцифенату та діакаμφу у фосфатному буферному розчині з рН 6,6. На підставі аналізу одержаних даних для подальших досліджень обрано проксанолову основу, яка забезпечує задовільне вивільнення обох діючих речовин. Показано, що завдяки наявності у складі проксанолової основи пропіленгліколю та розчинності в ньому діючих речовин збільшується їх вивільнення з даної основи.

Розробка нових високоефективних засобів для лікування проктологічних захворювань залишається актуальною проблемою сучасної фармації. Проведений аналіз наявності лікарських засобів для лікування захворювань прямої кишки свідчить про їх недостатній асортимент на фармацевтичному ринку України [4], тому існує необхідність в його розширенні, причому за рахунок більш доступних за ціною вітчизняних лікарських препаратів.

У Національному фармацевтичному університеті (м. Харків) під керівництвом чл.-кор. НАН України проф. В.П.Черних та проф. І.С.Гриценка було синтезовано лікарську речовину — натрієву сіль 4-ацетилсукцинанілової кислоти, на основі якої розроблено оригінальний препарат сукцифенат у вигляді ліофілізованого порошку, що проявляє гемостатичну активність. А під керівництвом проф. С.І.Мерзлікіна було синтезовано ( $\pm$ )-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонову кислоту, на основі якої розроблено новий лікарський засіб діакаμφ, який вже зарекомендував себе як антидіабетичний препарат і, як було доведено, має добре виражену репаративну активність. Враховуючи симптоматику захворювань прямої кишки [10-11] та рекомендації і побажання лікарів-проктологів ХМАПО нами було розробле-

но новий комбінований лікарський засіб у формі супозиторіїв, до складу якого були включені дані речовини, а також місцевий анестетик.

При виборі лікарської форми для профілактики та лікування даних захворювань, як неодноразово було доведено, найбільш раціональною лікарською формою, зручною при застосуванні та здатною забезпечувати максимальний терапевтичний ефект, є супозиторії [3]. Важливим компонентом, який є носієм діючих речовин даної лікарської форми, що впливає на біофармацевтичні та споживчі властивості супозиторіїв, є основа. Супозиторна основа завдяки своїм фізико-хімічним властивостям чинить вирішальний вплив на біодоступність діючих речовин [1, 8-9].

Мета запропонованої роботи — вибір оптимальної основи для супозиторіїв з сукцифенатом та діакаμφом. Для цього було досліджено вивільнення даних речовин із різних за складом і природою супозиторних основ.

### Експериментальна частина

У дослідженні були використані супозиторії, виготовлені на таких основах: проксанолова, до складу якої входить проксанол-268, пропіленгліколь (ПГ) та поліетиленоксид-400 (ПЕО-400); поліетиленоксидні: ПЕО-1500+ПЕО-400 у співвідношенні 95:5 та ПЕО-4000+ПЕО-400 у співвідношенні 80:20; твердий жир та вітепсол. До складу досліджуваних супозиторних зразків сукцифенат та діакаμφ були включені окремо.

Для дослідження вивільнення діючих речовин із супозиторіїв були використані методи *in vitro* — це дифузія в агар та метод рівноважного діалізу через напівпроникну мембрану з природних або штучних матеріалів, які є найбільш простими та доступними [2, 7, 13].

Враховуючи той факт, що для сукцифенату існує специфічний реактив (0,5 М розчин купруму сульфату Р), який дає з даною речовиною кольорове забарвлення, для дослідження її вивільнення було використано метод "агарових пластинок".

Другий метод, який був використаний у дослідженні, — метод діалізу [1-2]. Наважка дослі-

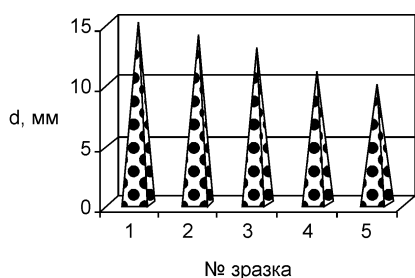


Рис. 1. Вивільнення сукцифенату з різних супозиторних основ: 1 — проксанолова; 2 — ПЕО-1500 + ПЕО-400 (95:5); 3 — ПЕО-4000 + ПЕО-400 (80:20); 4 — твердий жир; 5 — вітепсол.

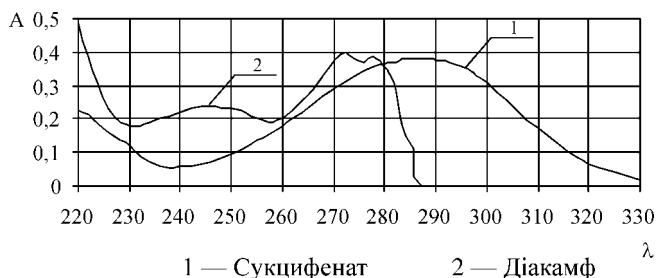


Рис. 2. Адсорбційні спектри сукцифенату і діакамфу в буферному розчині з рН 6,6.

джуваного зразка становила 3,0. Як діалізне середовище використовували буферний розчин з рН 6,6. Обране рН середовища відповідає рН прямої кишки при запальних процесах. Під час дослідження зразки витримували в термостаті ТС-80М-2 при температурі  $37,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ . Тривалість дослідження — 7 год.

Для кількісного визначення сукцифенату та діакамфу в діалізаті використовували спектрофотометричний метод в ультрафіолетовій ділянці спектра.

**Результати та їх обговорення**

При використанні “методу агарових пластинок” ступінь дифузії сукцифенату визначали за діаметром забарвленої в блакитний колір зони, що

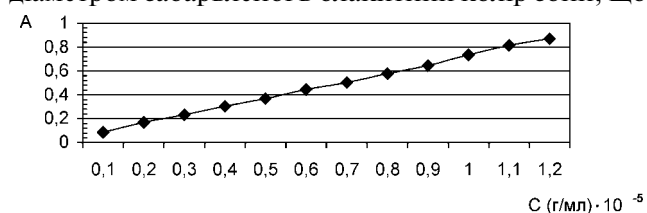


Рис. 3. Градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації розчинів сукцифенату в буферному розчині з рН 6,6.

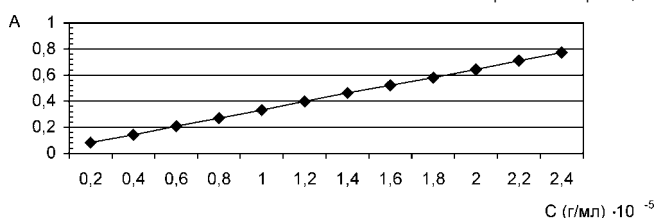


Рис. 4. Градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації розчинів діакамфу в буферному розчині з рН 6,6.

утворюється в результаті взаємодії діючої речовини з реактивом, уведеним до агарового гелю.

Результати досліджень свідчать про те (рис. 1), що гідрофобні основи — твердий жир та вітепсол погано вивільняють діючу речовину, а вивільнення з гідрофільних основ проходить майже на одному рівні. Результати, отримані у даному експерименті при вивільненні сукцифенату, не дозволяють зробити остаточний вибір основи. Крім того, враховуючи ту обставину, що даний метод застосувати для вивчення вивільнення діакамфу (внаслідок відсутності специфічного реактиву) неможливо, необхідно було провести подальші дослідження з використанням іншого методу.

Тому наступним кроком у наших дослідженнях було вивчення вивільнення сукцифенату і діакамфу із модельних супозиторних основ методом рівноважного діалізу через напівпроникну мембрану за відомою методикою [2].

З метою розробки методу визначення концентрації діючих речовин у діалізаті нами було досліджено їх адсорбційні спектри у фосфатному буфері з рН 6,6 в межах від 220 до 330 нм. Спектр сукцифенату складається з широкої смуги з максимумом при 287 нм, який може бути використаний як аналітична смуга поглинання (рис. 2). Для дослідження діакамфу було обрано максимум поглинання при 278 нм. Враховуючи той факт, що максимумами поглинання сукцифенату та діакамфу перекриваються та заважають визначенню один одного, дослідження проводили з модельними сумішами, які містять лише один компонент.

Перевірка підпорядкування світлопоглинання розчинів сукцифенату та діакамфу в фосфатному буфері з рН 6,6 закону Бугера-Ламберта-Бера показала, що залежність оптичної густини від концентрації сукцифенату в межах  $0,1 \cdot 10^{-5}$  до  $1,2 \cdot 10^{-5}$  має лінійний характер (рис. 3). У цих межах питомий показник поглинання є практично постійним і дорівнює  $738 \pm 4,2$ .

Градувальний графік для діакамфу в межах від  $0,2 \cdot 10^{-5}$  до  $2,4 \cdot 10^{-5}$  також має лінійну залежність (рис. 4). У цих межах питомий показник поглинання є практично постійним і дорівнює  $329 \pm 4,8$ .

Концентрацію отриманих при діалізі розчинів (г/мл) визначали за градувальним графіком або розраховували, використовуючи дані оптичних густин стандартних розчинів, отриманих при побудові градувального графіка:

$$\frac{A}{A_{СТ}} = \frac{C}{C_{СТ}}, \text{ звідки } C = \frac{(A \cdot C_{СТ} \cdot b)}{A_{СТ}}$$

де:  $A$  — оптична густина досліджуваного розчину;  $C_{СТ}$  — концентрація стандартного розчину, г/мл;  $A_{СТ}$  — оптична густина стандартного розчину;  $b$  — розведення.

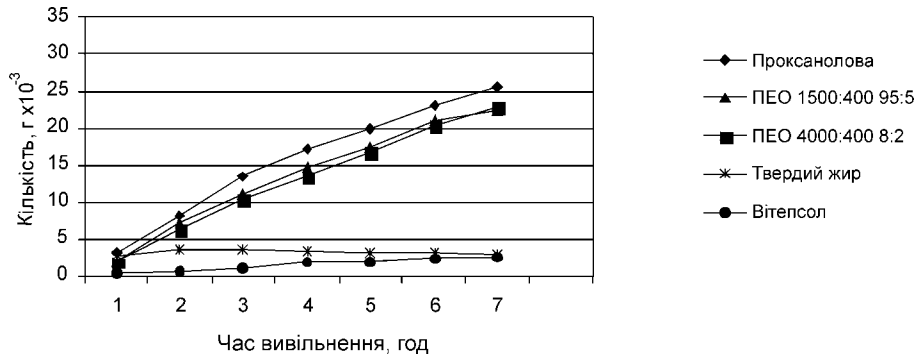


Рис. 5. Динаміка вивільнення сукцифенату з експериментальних зразків супозиторіїв.

При розрахунку загальної кількості речовини, що перейшла у розчин, враховували її кількість, яка містилась у відібраних раніше пробах:

$$X_n = C_n \cdot V_p + \frac{X_{n-1}}{V_p} \cdot V_a,$$

де:  $X_n$  — загальна кількість речовини, яка перейшла у розчин за  $n$  годин досліджу;

$C_n$  — концентрація речовини в діалізаті через  $n$  годин досліджу (г/мл);

$V_p$  — загальний об'єм розчину в діалізаційній камері (50 мл);

$X_{n-1}$  — загальна кількість речовини, яка перейшла в розчин за  $n-1$  годин досліджу;

$V_a$  — об'єм аликвоти, відібраної для аналізу (5 мл).

Результати дослідження з вивчення вивільнення сукцифенату з різних за складом і природою супозиторних основ представлені на рис. 5.

Як видно з результатів дослідження, природа основи значно впливає на швидкість та повноту вивільнення діючої речовини. Із зразків супозиторіїв, виготовлених на гідрофобних основах, вивільнення було мінімальним. Із зразків на ПЕО-основах вивільнення проходило майже на одному рівні і за час експерименту складало приблизно 22%. Найбільш інтенсивне вивільнення спостерігали із проксанолової основи — 25,72% від його загальної кількості у наважці. Таким чином, враховуючи результати проведених досліджень (метод дифузії в агар та вивільнення через напівпроникну мембрану), можна стверджувати, що проксанолова основа в порівнянні з іншими супозиторними композиціями забезпечує найбільш швидке, повне та рівномірне вивільнення сукцифенату.

Як видно з рис. 6, найменше вивільнення діакамфу спостерігається із супозиторіїв на основі твердого жиру та поліетиленоксидних основ. Із зразків на основі вітепсолу вивільнення проходило більш активно в порівнянні з попередніми і складало 14%. Найбільша кількість діакамфу перейшла в діалізат із проксанолової основи, що складає 19,6% від його загальної кількості у наважці.

Комбіновані основи при розробці нових лікарських препаратів користуються особливою увагою, оскільки вони дають змогу керувати інтенсивністю та напрямком процесу дифузії діючих речовин в уражені місця. Серед них вагоме місце посідає проксанолова основа, яка в наших дослідженнях виявилась найкращою. Це гідрофільна основа, яка є водорозчинною сумішшю неводних розчинників та полімерів — ПЕО-400, ПГ, проксанолу-268. Завдяки властивостям кожного із складових компонентів дана основа має ряд переваг в порівнянні з гідрофобними та поліетиленоксидними основами. Пропіленгліколь є низькомолекулярною сполукою, яка швидко проникає у клітини і, таким чином, створює осмотичну рівновагу між цитоплазмою клітин і розробленим препаратом. ПЕО-400 — рідкий полімер оксиду етилену, який володіє вираженими осмотичними властивостями, тому його завдання — тривала та висока абсорбція виділень із прямої кишки. Проксанол-268 забезпечує більш рівномірну та тривалу абсорбцію, ніж ПЕО-1500, також він має кращі поверхнево-активні властивості (змочування пошкоджених ділянок та розтікання по них [5, 12]. Окрім наведених позитивних сторін даної основи, які були детально висвітлені у роботах співробіт-

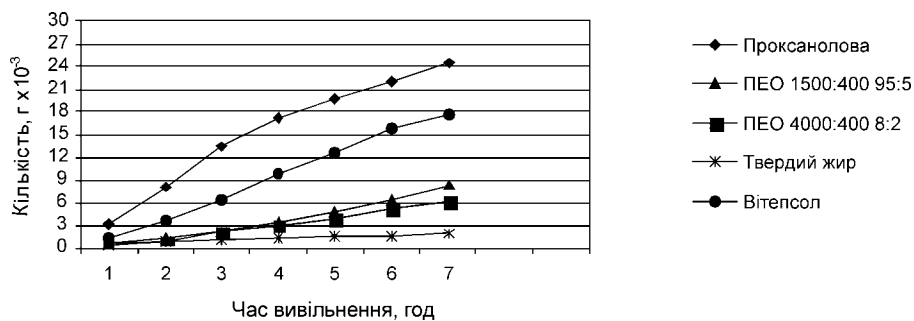


Рис. 6. Динаміка вивільнення діакамфу з експериментальних зразків супозиторіїв.

ників ДНЦЛЗ Н.А.Ляпунова і Ю.М.Столпер [1, 6], підкреслено, що сукцифенат розчиняється в ПГ, а діакамф знаходиться в напіврозчинному стані, тому ПГ сприяє прискоренню дифузії діючих речовин крізь напівпроникну мембрану та забезпечує їх максимальне вивільнення.

Таким чином, комбінована проксанолова основа є найбільш раціональною для супозиторіїв з даними діючими речовинами, оскільки складові компоненти даної основи забезпечують найбільш задовільне вивільнення сукцифенату та діакамфу, що сприятиме їх надходженню в уражені місця прямої кишки.

#### ВИСНОВКИ

1. Досліджено вивільнення *in vitro* сукцифенату та діакамфу з різних за складом і природою супозиторних основ: проксанолової, двох видах поліетиленоксидних, а також із зразків на основі

твердого жиру та вітепсолу за допомогою методу “агарових пластинок” та методу діалізу.

2. Для реєстрації концентрації досліджуваних речовин у діалізаті розроблено методику спектрофотометричного визначення у фосфатному буферному розчині з рН 6,6 при максимумах поглинання  $\lambda=287$  нм для сукцифенату та  $\lambda=278$  нм для діакамфу.

3. За результатами експерименту найкращою основою, яка забезпечує найбільш швидке, повне та рівномірне вивільнення сукцифенату (у методі дифузії в агар і діалізу) та діакамфу (у методі діалізу), виявилась проксанолова основа. Показано, що завдяки розчинності діючих речовин у ПГ, який входить до складу проксанолової основи, збільшується їх дифузія у діалізат. Враховуючи одержані результати, ми відібрали проксанолову основу для подальших досліджень.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Безуглая Е.П., Фадейкина А.Г., Лысокобылка А.А. и др. // *Фармаком.* — 1999. — №1. — С. 26-29.
2. Гризодуб А.И., Козлова Н.Г., Драник Л.И. и др. // *Фармаком.* — 1994. — №12. — С. 4-20.
3. Кондратюк Н.А., Дмитрієвський Д.І. Супозиторії — раціональна лікарська форма для лікування проктологічних захворювань / *Сьогоднішня та майбутня фармація: тез. доп. Всеукр. конгр. (16-19 квітня 2008 р., м. Харків).* — Х.: Вид-во НФаУ, 2008. — С. 275.
4. Кондратюк Н.А., Моциц В.Ф., Дмитрієвський Д.І. // *Фармаком.* — 2007. — №1. — С. 103-108.
5. Повстяний М.Ю., Козинець Г.П., Осадча О.І. та ін. *Сучасне місцеве медикаментозне лікування опіків: Метод. рекомен.* — К., 2001. — 32 с.
6. Столпер Ю.М. *Розробка та стандартизація вагінальних супозиторіїв антимікробної дії: Автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук.* — Х., 2008. — 20 с.
7. Al-Dossary Basmah N., Al-Gohary Omaimah M.N., El-Khawaas Manal M. // *Sci. Pharm.* — 2006. — Vol. 74, №1. — P. 31-51.
8. Allen L.V. // *Int. J. Pharm. Compound.* — 2000. — Vol. 4, №4. — P. 289-293; P. 324-325.
9. Allen L.V. // *Int. J. Pharm. Compound.* — 2000. — Vol. 4, №5. — P. 372-373; P. 404-405.
10. Doyle D. // *J. of the Royal College of Physicians of Edinburgh.* — 2005. — Vol. 35, №4. — P. 367-370.
11. Guerrero P. // *Medicine J.* — 2001. — Vol. 2, №2. — P. 356-359.
12. Moghimi S.M., Hunter A.C. // *Trends Biotechnol.* — 2000. — №18. — P. 412-420.
13. Sevgi G., Mine O., Yildiz O. et al. // *Sci. Pharm.* — 2003. — Vol. 71, №4. — P. 357-367.

УДК 615.454.2:616.147.17 — 007.64:543.42.062

#### ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРИРОДЫ И СОСТАВА ОСНОВЫ НА ВЫСВОБОЖДЕНИЕ СУКЦИФЕНАТА И ДИАКАМФА ИЗ СУППОЗИТОРИЕВ

Н.А.Кондратюк, В.А.Грудко, Д.И.Дмитриевский, С.И.Мерзликин

Изучено кинетику высвобождения *in vitro* сукцифената и диакамфа из разных по природе и составу суппозиторных основ с помощью методов диффузии в агар и равновесного диализа через полупроницаемую мембрану. Для регистрации концентрации исследуемых веществ в диализате разработано методику спектрофотометрического определения сукцифената и диакамфа в фосфатном буферном растворе с рН 6,6. На основании анализа полученных данных для дальнейших исследований выбрано проксаноловую основу, которая обеспечивает удовлетворительное высвобождение каждого действующего вещества. Показано, что благодаря присутствию в составе проксаноловой основы пропиленгликоля и растворимости в нем действующих веществ, увеличивается их высвобождение из данной основы.

UDC 615.454.2:616.147.17 — 007.64:543.42.062

#### INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF THE BASE'S NATURE AND COMPOSITION ON RELEASING OF SUC-CIPHENATE AND DIACAMPH FROM SUPPOSITORIES

N.A.Kondratyuk, V.A.Grudko, D.I.Dmitrievsky, S.I.Merzlikin

The kinetics of releasing *in vitro* of succiphenate and diacamph from suppository bases, which are different by the nature and composition has been investigated by the methods of diffusion in agar and equilibrium dialysis via the permeable membrane. The method of spectrophotometric identification of succiphenate and diacamph in the phosphate buffer solution with pH 6.6) has been developed to register the concentration of the substances studied. Based on analysis of the data obtained the proxanol base providing a sufficient release of active ingredients has been chosen for further research. It has been shown that due to the presence of propylene glycol in the composition of the proxanol base and solubility of active substances in it the release of active substances from the given base increases.