

Рекомендована д.ф.н., професором В.С.Бондарем

УДК 615.454.1:542.64:543.42.062

ВИВЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ БІОДОСТУПНОСТІ ЕТАКРИДИНУ ЛАКТАТУ ВІД СКЛАДУ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ

В.В.Ковалев, В.О.Грудько, Т.Г.Ярних, В.М.Ковалев

Національний фармацевтичний університет

Експериментально вивчено залежність біодоступності етакридину лактату від складу основи та присутності екстракту хлорофіліпту густого. Розроблено методику спектрофотометричного визначення концентрації його водних розчинів.

Численними експериментальними дослідженнями виявлено, що технологія, а особливо склад, значною мірою впливають на швидкість та повноту вивільнення діючих речовин з м'яких лікарських форм. Колективом авторів досліджено вплив екстракту хлорофіліпту густого та водного розчину пропіленгліколю на біодоступність етакридину лактату [2, 3, 6, 9, 10, 11, 13, 14].

Поява резистентної мікрофлори та збільшення випадків госпітальної інфекції спонукає дослідників при розробці м'яких лікарських форм для лікування ранових процесів застосовувати комбінації лікарських речовин, що мають посиленій вплив на патогени. З цією метою доцільно використовувати рослинні антибактеріальні препарати, одним з яких є екстракт хлорофіліпту густий, у поєданні з хіміотерапевтичними речовинами, представником яких є етакридину лактат. За притаманними механізмами бактерицидної дії, етакридину лактат належить до антисептиків, які за рахунок хімічної спорідненості з нуклеотидами незворотно блокують синтез і функцію цитоплазматичної мембрани мікробної клітини. Однією з найважливіших властивостей етакридину лактату є здатність блокувати механізм R-плазмідного формування антибіотикорезистентності, притаманний мікробним клітинам, що досить важливо при використанні препаратів протягом тривалого лікування [3, 4, 5, 6].

Вивчення біодоступності проводили методом діалізу крізь напівпроникну мембрانу, який дає можливість прослідкувати у динаміці кількість діючої речовини, що вивільняється зі складу лікарської форми і здатна проникати крізь мембрани мікро- і макроорганізмів. Досліджено вплив густого екстракту хлорофіліпту і водного розчину пропіленгліколю на вивільнення етакридину лактату зі зразків м'яких лікарських форм на гідро-

фільній основі з помірною осмотичною активністю [3, 6]. Основним завданням було експериментально перевірити вплив екстракту хлорофіліпту густого і водного розчину пропіленгліколю на біодоступність досліджуваної речовини.

Матеріали та методи

Вивільнення діючої речовини з мазей визначали за ступенем її дифузії крізь напівпроникну мембрану. Для цього використовували діалізаційну камеру, що складається із зовнішнього та внутрішнього циліндрів. До нижнього отвору внутрішнього циліндра діалізаційної камери герметично прикріплювали напівпроникну мембрану, площа якої при діаметрі 50 мм складає 1963 мм². Наважку дослідного зразка (5,0 г) рівномірно наносили на поверхню мембрани, внутрішній циліндр з дослідним зразком вміщували в діалізаційну камеру, що містила 50±0,5 мл фосфатного буферного розчину з pH 5,6, за допомогою якого моделювали умови I фази ранового процесу. Відбір проб (5 мл) проводили за допомогою піпетки через кожні 60 хв. Після відбору проби об'єм буферного розчину в діалізаційній камері доводили до 50 мл. Під час досліду зразки витримували в термостаті ТС-80-М-2 при температурі 34±1°C, що відповідає температурі шкіри людини. Тривалість дослідження складала 6 годин (доцільність використання мазей 4 рази на добу).

Одним з найбільш розповсюджених методів ідентифікації і кількісного визначення лікарських речовин є адсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях спектра. Вивчення спектрів поглинання та розробку спектрофотометричної методики визначення концентрації розчинів етакридину лактату проводили відповідно до вимог ДФУ 2.2.25 [1, 7, 8, 11, 12, 15, 14].

Оптичну густину одержаних зразків діалізату визначали на спектрофотометрі СФ-46 у кюветі з товщиною шару 1 см при довжині хвилі 270 нм по відношенню до фосфатного буферного розчину з pH 5,6. При необхідності відібрані проби розводили буферним розчином до одержання оптичної густини, що знаходиться в межах підпорядковання закону Бугера-Ламберта-Бера. Концентрацію аналізованої речовини розраховували, використо-

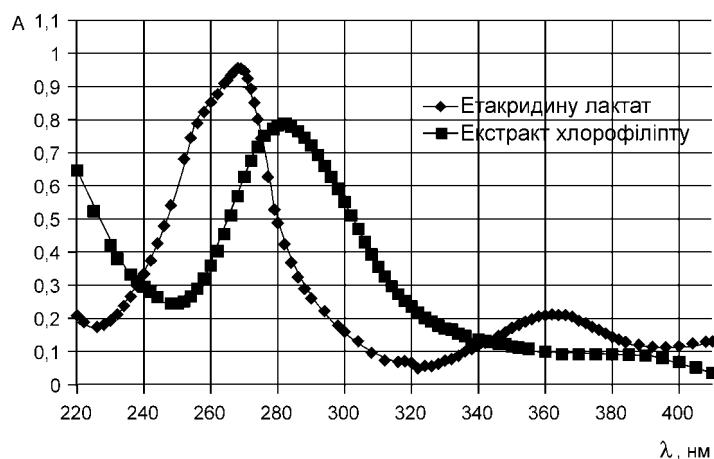


Рис. 1. Адсорбційні спектри водних розчинів етакридину лактату та екстракту хлорофіліпту густого з концентрацією $0,8 \cdot 10^{-5}$ г/мл.

вуючи дані оптичної густини стандартних розчинів, одержаних при побудові градуювального графіка [3].

Вивчення меж підпорядкування закону Бугера-Ламберта-Бера показало, що кількісне визначення етакридину лактату методом спектрофотометрії в середовищі буферного розчину з pH 5.6 може бути проведено в межах концентрацій від $0,2 \cdot 10^{-5}$ до $2,4 \cdot 10^{-5}$ г/мл.

Приготування стандартних зразків наступне: 0,05 г етакридину лактату (точна наважка) вміщували в мірну колбу ємністю 100 мл, додавали 70 мл води очищеної, нагрівали на водяній бані і перемішували до розчинення, охолоджували, доводили до позначки тим же розчинником та реальному перемішували (розчин №1).

В мірну колбу ємністю 50 мл вміщували 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6; 1,8; 2,0; 2,2; 2,4 мл розчину 1 стандартного зразка етакридину лактату і доводили об'єм до позначки буферним розчином з pH 5.6.

Результати та їх обговорення

З метою вивчення можливості визначення етакридину лактату в присутності екстракту хлорофіліпту густого нами було вивчено їх адсорбційні спектри. Спектри поглинання екстракту хлорофіліпту густого та етакридину лактату наведено на рис. 1.

У спектрі водного розчину екстракту хлорофіліпту густого в області 220-480 нм спостерігаються три смуги поглинання. Можна припустити, що високоінтенсивний максимум при 282 нм відповідає $\pi \rightarrow \pi^*$ переходам гетероарomaticкої системи піролу, плато при 360-395 нм виникає за рахунок супряження чотирьох пірольних систем, а так звана смуга Соре вироджується до перегину смуги вбирання при 425-430 нм [3, 11].

Аналіз спектра етакридину лактату (рис. 1) показує, що він складається з чотирьох смуг поглинання з максимумами при 210, 268, 362 і 410 нм, причому смуги поглинання з максимумами 210, 268 нм будуть накладатись на смуги поглинання хлорофіліпту.

Максимум поглинання при довжині хвилі 410 є низькоінтенсивним, тому не може бути використаним для дослідження ступеня вивільнення речовини, де необхідно забезпечити високу чутливість методу. Максимум при довжині хвилі 362 нм є достатньо інтенсивним, відповідає поставленій меті, але припадає на плато у спектрі поглинання екстракту хлорофіліпту. Екстракт хлорофіліпту густий практично нерозчинний у воді, тому при вивільненні у фосфатний буферний розчин його концентрація у діалізаті є настільки незначною, що на ділянці 350-380 нм практично не поглинає ультрафіолетове випромінювання (рис. 2). Тому

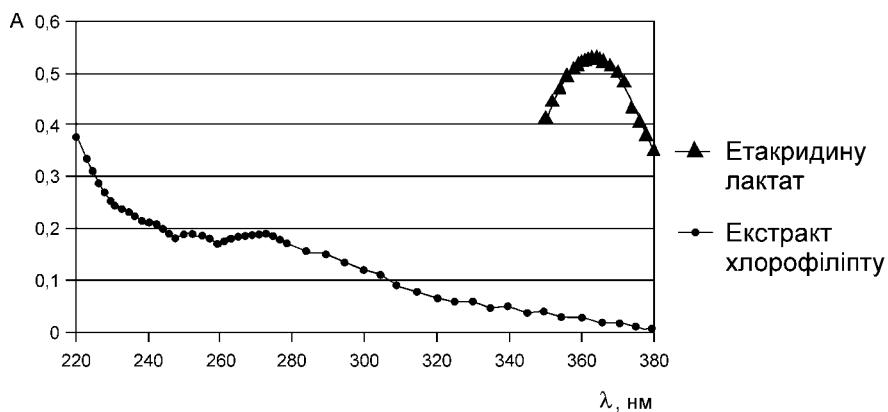


Рис. 2. Адсорбційні спектри діалізату етакридину лактату та екстракту хлорофіліпту густого з концентрацією $0,8 \cdot 10^{-5}$ г/мл.

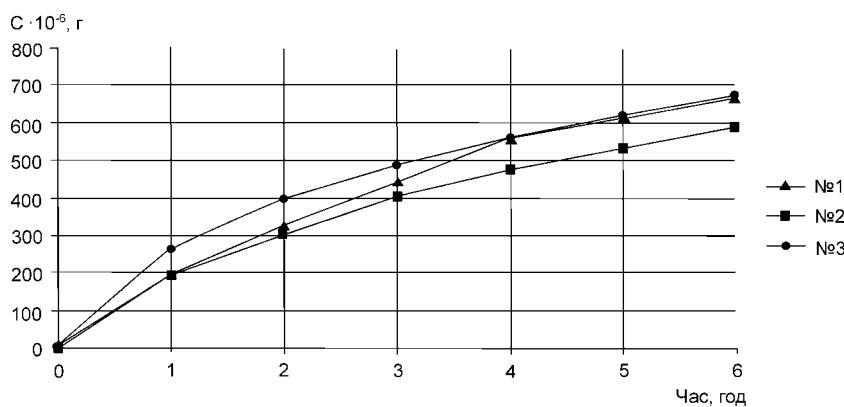


Рис. 3. Динаміка вивільнення етакридину лактату з дослідних зразків мазей n=6, P=95%.

визначення біодоступності етакридину лактату доцільно проводити при довжині хвилі 362 нм.

Вивільнення етакридину лактату з МЛФ на гідрофільніх основах вивчали методом рівноважного діалізу через напівпроникну мембрани. При стандартизації умов експерименту одержані дані дозволяють оцінити відносну біодоступність діючих речовин і провести порівняльну характеристику досліджуваних зразків.

Для цього були виготовлені дослідні зразки мазей з етакридину лактатом, склад яких наведено у таблиці.

Концентрацію одержаних в результаті діалізу розчинів розраховували, використовуючи дані оптичної густини стандартних розчинів, одержаних при побудові градуovalного графіка.

$$C = \frac{A \cdot C_{cm} \cdot b}{A_{cm}},$$

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

При розрахунку загальної кількості етакридину лактату, що перейшов у розчин, враховували його 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, що перейшла у розчин за n годин досліду, г; C_n — концентрація речовини в діалізаті, г/мл через n годин досліду; V_p — загальний об'єм розчину в діалізацийній камері (50 мл); X_{n-1} — загальна кількість речовини, що перейшла у розчин за n-1 годин досліду, г; V_a — об'єм аліквоти, відібраний для аналізу (5 мл).

Результати проведених досліджень наведені на рис. 3.

Як видно з даних, наведених на рис. 3, найбільша концентрація етакридину лактату в діалізаті як за перші 3 год досліду, так і наприкінці експерименту спостерігається у зразку №3 і становить $670,1 \cdot 10^{-6}$ г на 6 год досліду. Це пов'язано

Таблиця
Склад дослідних зразків

Речовина	Склад, г		
	зразок №1	зразок №2	зразок №3
Екстракт хлорофіліпту густий	0	1,0	1,0
Етакридину лактат	0,3	0,3	0,3
Декспантенол	2,5	2,5	2,5
Твін-80	1,0	1,0	1,0
ПГ	0	0	5,0
Вода очищена	0	0	5,0
ПЕО-400	54,6	53,2	47,1
ПЕО-1500	41,6	42,0	38,1

як з помірною розчинністю етакридину лактату у воді, так і з тим, що розчин пропіленгліколю, що міститься у зразку, сприяє найбільш швидкій дифузії молекул етакридину лактату через пори напівпроникної мембрани.

При порівнянні швидкості вивільнення етакридину лактату зі зразків №1 та №2 можна зробити висновок, що екстракт хлорофіліпту густий не заважає вивільненню етакридину лактату, але дещо уповільнює цей процес. Таким чином, вивільнення етакридину лактату зі зразка №3 проходить помірно і сягає близько 45% вже на шосту годину досліду.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено методику кількісного визначення етакридину лактату в діалізаті в середовищі фосфатного буферного розчину з pH 5,6 у присутності екстракту хлорофіліпту густого.

2. Методом рівноважного діалізу крізь напівпроникну мембрани вивчено біологічну доступність етакридину лактату і встановлено, що введення у склад мазової основи водного розчину пропіленгліколю значно підвищує біодоступність МЛФ.

3. Експериментально доведено відсутність негативного впливу екстракту хлорофіліпту густого на біодоступність етакридину лактату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІПЕГ, 2001. — Доп. 2. — 2008. — 618 с.
2. Иванов Л.В., Пиминов А.Ф., Зеленин Ю.В. // Вісник фармації. — 2002. — №2 (30). — С. 146-148.
3. Ковалев В.В., Грудько В.О., Чуевов В.И. // Укр. біофарм. журн. — 2009. — №4. — С. 10-13.
4. Ковалев В.В., Филимонова Н.И., Чуевов В.И. Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. — Вып. 64. — Пятигорск, 2009. — С. 439-440.
5. Филимонова Н.И., Остапенко В.М., Дикий И.Л., Ковалев В.В. // Вісник фармації. — 2005. — №1 (41). — С. 69-72.
6. Яковлева Л.В., Ковалева Е.О., Ковалев В.В., Ахмад Ібрагім Салейман // Вісник фармації. — 2010. — №1 (61). — С. 59-61.
7. Alizadeh N., Khakinahad R., Jabbari A. // Die Pharmazie. — 2008. — Vol. 63, №11. — P. 791-795.
8. Bende G., Kollipara S., Saker V., Saha R. // Die Pharmazie. — 2008. — Vol. 63, №9. — P. 641-645.
9. Kata M., Aigne Z., Eros I. // Acta Pharmac. Hungarica. — 1998. — Vol. 68, №2. — P. 107-112.
10. Krzek J., Moniczewska M., Zabierowska-Slusarczyk G. // J. Pharm. and Biomed. Anal. — 2003. — Vol. 33, №3. — С. 403-409.
11. Li X.M., Chen Z.P., Wang S.P. et al. // Die Pharmazie. — 2008. — Vol. 63, №9. — P. 638-640.
12. Moberd L., Robertson G., Karlberg B. // Talanta. — 2001. — Vol. 54, №1. — P. 161-170.
13. Panchagnula P., Thomas N. // Int. J. Pharmac. — 2000. — Vol. 17, №4. — P. 131-150.
14. Sakamoto T., Fujimaki Y., Hiyama Y. // Die Farmazie. — 2008. — Vol. 63, №9. — P. 628-632.
15. Subert J., Cizmarik J. // Die Pharmazie. — 2008. — Vol. 63, №5. — P. 331-336.

УДК 615.454.1:542.64:543.42.062

ІЗУЧЕНІЯ ЗАВІСИМОСТІ БІОДОСТУПНОСТИ ЭТАКРИДИНА ЛАКТАТА ОТ СОСТАВА МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЇ ФОРМЫ

В.В.Ковалев, В.А.Грудько, Т.Г.Ярных, В.Н.Ковалев
 Экспериментально изучена зависимость биодоступности этакридина лактата от состава основы и присутствия экстракта хлорофиллита густого. Разработана методика спектрофотометрического определения его концентрации в водных растворах.

UDC 615.454.1:542.64:543.42.062

THE STUDY OF DEPENDENCE OF ETHACRIDINE LACTATE BIOAVAILABILITY ON THE COMPOSITION OF A SOFT MEDICINAL FORM

V.V.Kovalyov, V.O.Grudko, T.G.Yarnykh, V.M.Kovalyov

The dependence of ethacridine lactate bioavailability on the composition of the base and the presence of a dense chlorophyll-lip extract has been studied experimentally. The spectrophotometric method for determination of its concentration in water solutions has been developed.