

© Коллектив авторов, 2016

Г. О. Нифонтова^{1,2}, О. В. Долотова¹, И. В. Саранцева¹, А. Р. Ахметзянова³,
С. П. Кречетов¹, И. И. Краснюк²

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ИЗУЧЕНИЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРОЛОНГИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА АМБЕНА НА ОСНОВЕ ГИДРОФОБНЫХ МАТРИЦ

¹ Центр живых систем МФТИ; Долгопрудный; Россия; e-mail: galya.nif@yandex.ru

² ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова; Москва, Россия

³ ФГУП НПЦ "Фармзащита" ФМБА России, Химки, Московская область

Приводятся результаты исследований по разработке состава и изучению высвобождения пролонгированного лекарственного перорального препарата 4-аминометилбензойной кислоты (амбена) с использованием гидрофобных липидных и полимерных матриц. Показано, что параметры высвобождения амбена, учитывающие особенности его растворимости при разных рН, могут быть достигнуты при использовании исследованных полимерных гидрофобных матриц.

Ключевые слова: гидрофобные матрицы; амбен; пролонгированное высвобождение.

Одним из подходов, позволяющих обеспечивать модифицированное и, в частности, пролонгированное высвобождение умеренно растворимых и растворимых фармацевтических субстанций (ФС) при пероральном введении, является использование лекарственных форм (ЛФ) на основе гидрофобных матриц [1]. При прессовании гидрофобные матрицеобразователи формируют нерастворимый каркас, элементы которого ограничивают проникновение среды растворения и замедляют высвобождение. В зависимости от природы матрицеобразователи подразделяют на полимерные (поливинилхлорид, полиэтилен, этилцеллюлоза, сополимеры метилакрилата и метилметакрилата, сополимеры винилацетата и винилхлорида) и липидные (триглицериды, высшие жирные спирты, натуральные воски, гидрированные растительные масла) [2, 3].

4-Аминометилбензойная кислота (I, амбен) относится к фармакологической группе ингибиторов фибринолиза, обладает гемостатическим эффектом, оказывает противоотечное, протигвовоспалительное действие. Препараты этой группы входят в перечень ЖНВЛП и применяются в качестве кровоостанавливающих лекарственных препаратов (ЛП) при хирургических операциях, состояниях, характеризующихся повышенной фибринолитической активностью, в том числе острых воспалительных процессах, инфекционных осложнениях, геморрагическом диатезе, токсемии [4 – 6]. По данным Государственного реестра лекарственных средств в настоящее время на отечественном фармацевтическом рынке ЛП, в состав которого как субстанция входит I, производятся только в форме растворов для инъекций. Поэтому создание перорального ЛП амбена в виде твердой ЛФ является актуальным, а ЛП с пролонгированным высвобождением I сделает

возможным уменьшение вероятности развития нежелательных побочных эффектов и повысит комплаентность лечения пациентов.

Целью данной работы является разработка состава и изучение высвобождения ЛП амбена в виде таблеток с пролонгированным высвобождением на основе гидрофобных матриц с использованием полимера Kollidon® SR (физическая смесь 80 % поливинилацетата и 19 % поливинилпирролидона [7]) и липида Compritol 888 АТО.

Экспериментальная часть

ФС 4-аминометилбензойной кислоты (I, амбен) получена от "КемикалЛайн", РФ; вспомогательные вещества Kollidon® SR (K SR), Kollidon 17PF (K 17) – от BASF (Германия), Compritol 888 АТО (каталожное название – глицерил дибегенат, название по ИЮПАК – 2,3-дигидроксипропилдокозонат) фирмы Gatefosse (Франция); Eudragit L100 – Evonik Industries (Германия), карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) Blanose 9Н4F – от Ashland (США), аэросил Aerosil 200 – от Sigma Aldrich (США) и стеарат магния Ligamed – от Peter Greven GmbH&Co (Германия).

Изучение растворимости I проводили по методу "shake-flask" в 50 мМ буферных растворах: солянокислом (рН 1,2; 2,0); глициново-солянокислом (рН 2,2); фталатном (рН 3,0; 4,0; 5,0); фосфатном (рН 6,0; 6,8; 8,0), моделирующих среду различных отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). К навескам ФС добавляли необходимое количество буферного раствора из расчета 1; 0,1; 0,033; 0,01 и 0,001 г кислоты I на 1 мл растворителя, инкубировали при 37 °С и постоянном перемешивании в шейкере-инкубаторе IKA KS

Состав таблеток амбена на основе K SR

| Ингредиент | Содержание ингредиента в таблетке, мг | | | | | | | | |
|----------------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | МК 1 | МК 2 | МК 3 | МК 4 | МК 5 | МК 6 | МК 7 | МК 8 | МК 9 |
| I | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| K SR | 100 | 100 | 100 | 100 | 80 | 60 | 80 | 75 | 70 |
| КМЦ | – | 45 | – | – | – | – | – | – | – |
| Eudragit L100 | – | – | 45 | – | – | – | – | – | – |
| K 17 | – | – | – | 45 | – | – | 40 | 45 | 50 |
| Аэросил | 2,0 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 1,8 | 1,6 | 2,2 | 2,2 | 2,2 |
| Магния стеарат | 2,0 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 1,8 | 1,6 | 2,2 | 2,2 | 2,2 |
| Масса таблетки | 204,0 | 250,0 | 250,0 | 250,0 | 183,6 | 163,2 | 224,4 | 224,4 | 224,4 |

Таблица 2

Состав таблеток амбена на основе Compritol 888 АТО

| Ингредиент | Содержание ингредиента в таблетке, мг | | | | | | | | |
|-------------------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | МС 1 | МС 2 | МС 3 | МС 4 | МС 5 | МС 6 | МС 7 | МС 8 | МС 9 |
| I | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 116,8 | 100 | 100 | 100 |
| Compritol 888 АТО | 100 | 60 | 60 | 60 | 60 | 35 | 40 | 35 | 35 |
| КМЦ | – | 30 | – | – | – | – | – | – | – |
| Eudragit L100 | – | – | 30 | – | – | – | – | – | – |
| K 17 | – | – | – | 30 | – | – | 40 | 45 | 50 |
| Аэросил | 1,6 | 1,9 | 1,9 | 1,9 | 2,0 | 1,5 | 1,8 | 1,8 | 1,9 |
| Магния стеарат | 1,6 | 1,9 | 1,9 | 1,9 | 2,0 | 1,5 | 1,8 | 1,8 | 1,9 |
| Масса таблетки | 203,2 | 193,8 | 193,8 | 193,8 | 164,0 | 154,8 | 183,6 | 183,6 | 188,8 |

Примечание. МС 6 содержал пропорционально увеличенную дозу I, так как при использовании дозы в 100 мг при диаметре пуансона 8 мм таблетирование невозможно.

3000 ic control (Германия) с частотой 180 об/мин в течение 24 ч. Затем пробы центрифугировали (5 мин при 200 g, центрифуга LMC-300, BioSan, Латвия), отбирали супернатант для количественного определения исследуемой ФС с помощью ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC30 (Япония) с диодно-матричным детектором SPD-M20A, колонкой X-Bridge C₁₈ (150 × 4,6 мм; 3,5 мкм). Использовали градиентный режим элюирования с подвижной фазой, состоящей из компонента А (0,005 М гептилсульфоната натрия — Н₃Р₄, рН 3) и компонента Б (ацетонитрил), с постепенным увеличением доли компонента Б с 5 % (2 мин) до 40 % (7,5 мин) и 95 % (9 мин) при 27 °С со скоростью 1,5 мл/мин, объемом пробы 20 мкл, детектирование при длине волны 254 нм и времени хроматографирования 15 мин.

Для получения таблеток амбена на основе полимерных (табл. 1) и липидных (табл. 2) матриц все ингредиенты, за исключением стеарата магния, перемешивали в смесителе РМ 10 DOT. BONAPACE & CO (Италия). Затем смесь опудривали в том же смесителе и подвергали прессованию на таблеточном прессе EP-1 ERWEKA (Германия), снабженным двояковыпуклым пуансоном диаметром 8 мм с радиусом кривизны 7 мм.

Высвобождение ФС из таблеток оценивали по результатам теста “Растворение”, проведенного с помо-

щью on-line системы растворения, состоящей из тестера растворения DT 820 ERWEKA (Германия) с аппаратом типа “лопастная мешалка” и спектрофотометра UV-1800 Shimadzu (Япония), соединенных проточной системой и работающих под управлением программ-много обеспечения Disso. Net 2.9.0.0. Параметры проведения теста: объем среды растворения — 500 мл, температура — (37 ± 0,5) °С, скорость вращения мешалки — 50 об/мин, длина волны — 274 нм; среда растворения — солянокислый буфер (рН 1,2) и фосфатный буфер (рН 8,0). Статистическую обработку данных проводили в программе MS Office Excel 2007. Данные на рисунках представлены в виде средних значений и стандартных отклонений по 3 измерениям, если не оговорено другое количество измерений.

Результаты и их обсуждение

Изучение растворимости ФС является важным этапом решения технологических задач, так как позволяет осуществить предварительный выбор ЛФ для ФС, а особенности растворения определяют скорость, полноту высвобождения и всасывания ФС. Результаты исследований растворимости I в буферных растворах с разными рН изображены на рис. 1, а. В области насыщенных концентраций (теоретические концентрации I 100 и 33 мг/мл) зависимость носит несистематичный характер в силу выраженного влияния I на рН буфер-

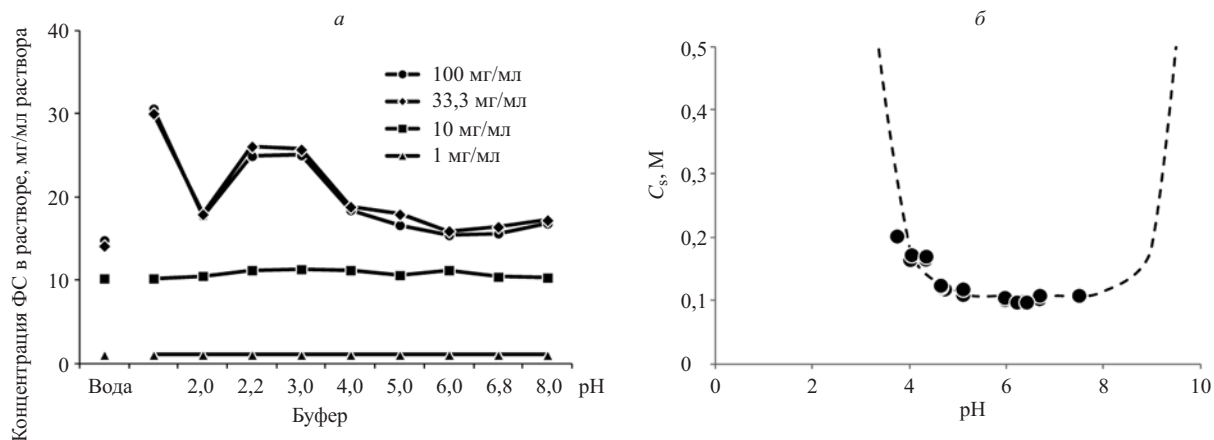


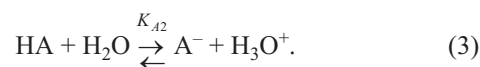
Рис. 1. Зависимость концентрации I в растворе от используемого буфера (а) и насыщенной концентрации I от pH раствора после инкубации (б). В пояснении обозначений на рисунке а указаны теоретические концентрации ФС. Пунктирная линия на рисунке б является теоретическим графиком зависимости насыщенной концентрации (C_s) амбена от pH, построенной с использованием параметров уравнения (4), полученных регрессионным анализом экспериментальных данных (показаны точками).

ных растворов. В табл. 3 в качестве показателей растворимости приведены концентрации I и значения pH после инкубации в растворах с теоретической концентрацией ФС 100 мг/мл. Согласно полученным данным значения pH насыщенных растворов I в средах с исходным pH меньше 5 оказываются сильно завышенными, а при исходных pH больше 6 значения pH насыщенных растворов заметно ниже. В связи с этим анализ зависимости растворимости I от pH проводили на основе значений pH, измеренных после установления равновесия в растворе.

По химической структуре I представляет собой амфолит из-за наличия в составе его молекулы карбоксильной группы, являющейся донором протонов, и аминогруппы — акцептора протонов. В твердом состоянии подобные соединения существуют в виде кристаллов, образованных цвиттер-ионами HA, переходящими в раствор в соответствии с уравнением [8]:



Кроме незаряженного цвиттер-иона, молекула амфолита может находиться в растворе в полностью протонированной H_2A^+ и апротонной A^- формах в соответствии с уравнениями:



Исходя из стехиометрических уравнений (1)–(3) с учетом того, что суммарная концентрация I в растворе $C_s = [\text{HA}] + [\text{H}_2\text{A}^+] + [\text{A}^-]$, в условиях равновесия [8, 9]:

$$C_s = C_0 \left(\frac{[\text{H}^+]}{K_{A1}} + 1 + \frac{K_{A2}}{[\text{H}^+]} \right), \quad (4)$$

Т а б л и ц а 3

Растворимость I при различных pH

| Среда растворения | pH | pH после инкубации | Насыщенная концентрация (S), мг/мл | Растворимость ФС по ГФ XII изд., ч. 1 | D/S , мл | Растворимость по БКС* |
|------------------------------|------|--------------------|--|---------------------------------------|------------|-----------------------|
| Вода | 5,60 | 6,21 | $14,80 \pm 0,10$ | умеренно растворима | 6,8 | высокая |
| Солянокислый буфер | 1,20 | 3,75 | $30,60 \pm 1,30$ | умеренно растворима | 3,3 | высокая |
| | 2,00 | 4,71 | $17,70 \pm 0,02$ | умеренно растворима | 5,6 | высокая |
| | 2,20 | 4,01 | $24,90 \pm 0,01$ | умеренно растворима | 4,0 | высокая |
| Глициново-солянокислый буфер | 3,00 | 4,33 | $25,00 \pm 0,01$ | умеренно растворима | 4,0 | высокая |
| | 4,00 | 4,64 | $18,40 \pm 0,01$ | умеренно растворима | 5,4 | высокая |
| | 5,00 | 5,10 | $16,60 \pm 0,01$ | умеренно растворима | 6,0 | высокая |
| Фосфатный буфер | 6,00 | 5,96 | $15,40 \pm 0,20$ | умеренно растворима | 6,5 | высокая |
| | 6,80 | 6,67 | $15,60 \pm 0,01$ | умеренно растворима | 6,4 | высокая |
| | 8,00 | 7,48 | $16,60 \pm 0,01$ | умеренно растворима | 6,0 | высокая |

Примечание. Представлены данные по растворимости амбена в пробках с теоретической концентрацией раствора 100 мг/мл растворителя. Максимальная разовая доза (D) амбена перорально составляет 100 мг [6, 10].

* БКС — биофармацевтическая классификационная система.

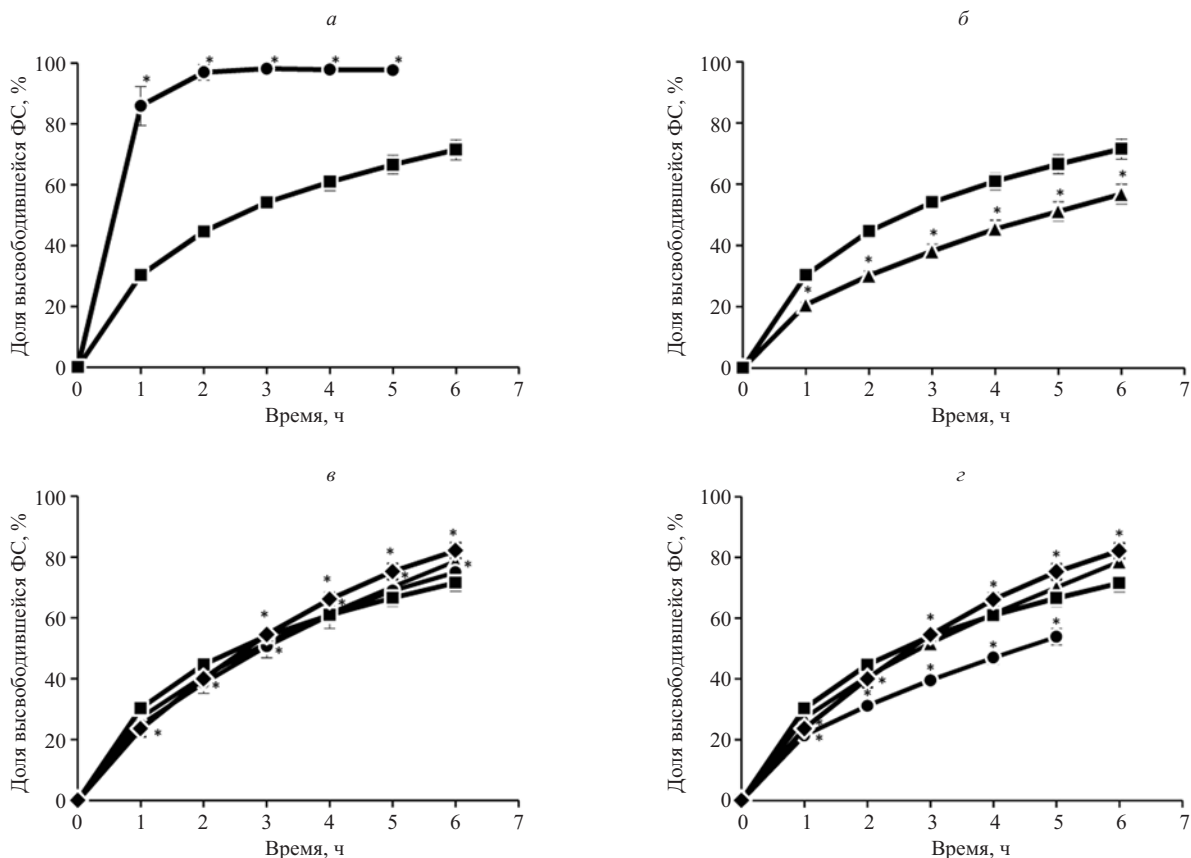


Рис. 2. Влияние вспомогательных веществ и усилия прессования на высвобождение амбена из таблеток на основе К SR при pH кишечного отдела ЖКТ: а) влияние доли матрицеобразователя (амбен:К SR): ■ — 1:1 (МК 1); ● — 1:0,6 (МК 6); б) влияние давления прессования: ■ — 275 ± 75 кг (МК 1); ▲ — 557 ± 29 кг (МК 5); в) влияние введения в состав порообразователя (К SR:К 17): ■ — 1:0 (МК 1); ◆ — 1:0,5 (МК 4); ▲ — 1:0,6 (МК 8); ● — 1:0,7 (МК 9); г) влияние усилия прессования в присутствии К 17: ◆ — 250 ± 50 кг (МК 4); ■ — 275 ± 75 кг (МК 1); ▲ — 387 ± 2 кг (МК 8); ● — 577 ± 11 кг (МК 7). * Отличия от контроля (МК 1) достоверны ($p < 0,05$). Количество измерений $n = 6$.

где $C_0 = K_S$ и называется собственной или внутренней растворимостью амфолита.

Полученные экспериментальные данные по насыщенным концентрациям I и pH после инкубации в пробах с теоретическими концентрациями ФС 33 и 100 мг/мл хорошо согласуются с уравнением (4). На рис. 1, б представлен график зависимости насыщенной концентрации I от pH построенный с использованием в уравнении (4) значений $pK_{A1} = 3,87$, $pK_{A2} = 9,13$ и $C_0 = 0,106$ М (16,0 мг/мл), полученных регрессионным анализом. Значимость соответствующей регрессионной модели по F -критерию Фишера соответствует $p < 0,05$. Используя значения констант диссоциации, возможно рассчитать значение pH в изоэлектрической точке амбена:

$$pI = (pK_{A1} + pK_{A2})/2 = 6,5.$$

Необходимость постоянного поддержания высокой действующей концентрации амбена в крови [11] определяет целесообразность создания пролонгированного перорального ЛП, обеспечивающего равномерное поступление ФС в организм между приемами со скоростью, не зависящей от pH отдела ЖКТ и временем полного высвобождения, соответствующим 6 – 8 ч.

Особенности растворимости I при физиологических pH и условие его равномерного высвобождения из ЛФ требуют поиска специального решения по устранению интенсивного (“взрывного”) высвобождения ФС на начальной стадии, которое усугубляется повышенной растворимостью I в кислой среде желудка.

Использование больших доз ФС, её растворимость и потребность в длительном высвобождении демонстрирует преимущество использования гидрофобных матриц как способа модификации высвобождения I. Скорость поступления ФС из гидрофобной матрицы в окружающую среду определяется формой таблетки, ее пористостью, размерами и протяженностью формирующихся в ней каналов. Повышение доли матрицеобразователя в составе таблеток приводит к возрастанию протяженности каналов и замедлению высвобождения. Добавление водорастворимых вспомогательных веществ — порообразователей, например, поливинилпирролидона, лактозы, маннита, способствует увеличению количества пор, просвета каналов и ускорению высвобождения ФС. На пористость матрицы также влияет давление прессования. Высокое давление прессования уменьшает пористость и замедляет высвобождение [2].

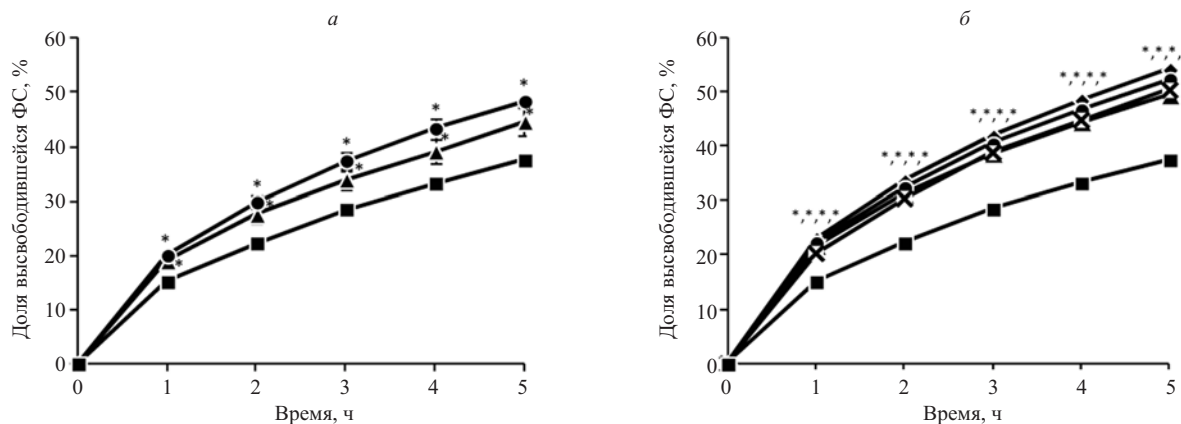


Рис. 3. Влияние вспомогательных веществ и усилия прессования на высвобождение амбена из таблеток на основе Compritol 888 АТО при рН кишечного отдела ЖКТ: *а*) влияние доли матрицеобразователя (амбен: Compritol 888 АТО): ■ — 1:1 (МС 1); ▲ — 1:0,6 (МС 5); ● — 1:0,3 (МС 6); *б*) влияние введения в состав порообразователя (Compritol 888 АТО:К 17) и давления прессования: ■ — 1:0, 219 ± 5 кгс (МС 1); x — 1:0,5, 244 ± 4 кгс (МС 4); ▲ — 1:1, 377 ± 6 кгс (МС 7); ◆ — 1:1,3, 402 ± 12 кгс (МС 8); ● — 1:1,4, 457 ± 12 кгс (МС 9). * Отличия от МС 1 достоверны ($p < 0,05$). Количество измерений $n = 6$.

Проведенные эксперименты показали, что скорость высвобождения I из полимерных матриц на основе К SR при рН кишечного отдела ЖКТ зависит от доли матрицеобразователя в таблетке (рис. 2, *а*) и давления прессования при её изготовлении (рис. 2, *б*). Как и ожидалось, уменьшение содержания К SR и давления прессования обеспечивает более высокую интенсивность высвобождения ФС. Добавление водорастворимого порообразователя поливинилпирролидона К 17 не сопровождается заметным ускорением высвобождения (рис. 2, *в*) даже при одновременном снижении содержания К SR. Изменение давления прессования при наличии в составе таблетки К 17 не существенно влияет на характер высвобождения амбена (рис. 2).

В целом, показатели высвобождения матриц на основе К SR близки к требуемым, но для данных образцов характерна высокая начальная скорость высвобождения, наблюдаемая даже при рН кишечного отдела ЖКТ, когда растворимость ФС минимальна. В качестве способа устранения “взрывного” высвобождения I в кислой среде желудка было исследовано введение в состав матриц рН-чувствительных порообразователей — КМЦ и кишечнорастворимого сополимера метакриловой кислоты и метилметакрилата Eudragit L100, не растворимых в кислых средах и растворимых в нейтральных и слабощелочных. Однако добавление в состав таблеток на основе К SR перечисленных веществ привело к обратному эффекту: их набухание в кислой среде вызывает деформацию и разрушение таблеток. При исследовании высвобождения I из таблеток с КМЦ (МК 2) и Eudragit L100 (МК 3) при рН желудочного отдела ЖКТ вместо замедления высвобождения был получен противоположный результат, характеризующийся переходом более половины дозы ФС в среду растворения в течение первого часа.

В случае липидных матриц определяющую роль в процессе высвобождения играет соотношение I:Compritol 888 АТО. Так, значительное уменьшение

содержания в таблетке Compritol 888 АТО от 100 % (МС 1) до 30 % (МС 6) от массы ФС, хотя и сопровождается достоверным увеличением скорости высвобождения (рис. 3, *а*), но не обеспечивает полного высвобождения I за 6–8 ч (менее 50 % за 5 ч). Введение в состав таблеток порообразователя К 17 (рис. 3, *б*) и использование различного давления прессования при изготовлении таблеток с Compritol 888 АТО очень слабо влияет на процесс высвобождения (рис. 3, *б*). Липидные матрицы также обладают высокой начальной скоростью высвобождения. Включение КМЦ (МС 2) и Eudragit L100 (МС 3) в состав таблеток на основе Compritol 888 АТО в кислой среде приводило к эффекту, сходному с описанным для полимерных матриц. Использование Compritol 888 АТО в качестве матрицеобразователя оказывается не привлекательно для получения таблеток I с интересующими показателями из-за низкой интенсивности его высвобождения.

Таким образом, в соответствии с результатами проведенных исследований пролонгированное высвобождение I из таблеток с характеристиками, учитывающими особенности его растворимости в разных отделах ЖКТ, в наибольшей степени достигается при использовании полимерного матрицеобразователя К SR. Липидный матрицеобразователь Compritol 888 АТО позволяет получать таблетки с более длительным высвобождением ФС. Полученные данные указывают на сложность достижения равномерного высвобождения из матриц. На начальном этапе высвобождение имеет высокую скорость, но со временем существенно замедляется. Эта особенность является как причиной “взрывного” высвобождения в кислой среде желудка, так и предпосылкой неполного высвобождения в кишечнике. Введение в состав нерастворимых в кислой среде рН-чувствительных порообразователей (КМЦ и Eudragit L100) не позволяет избежать интенсивного начального высвобождения I в среде желудка из-за набухания, приводящего к разрушению таблеток. Результаты данного исследования делают актуальным прове-

дение оптимизации показателей высвобождения для получения пролонгированного ЛП амбена с интересующим профилем высвобождения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (договор № 02.G25.31.0001) в рамках реализации Постановления Правительства РФ от 09.04.2010 г. № 218.

ЛИТЕРАТУРА

1. Md. S. Reza, M. A. I. Quadir, S. Sh. Haider, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **6**(2), 282 – 291 (2003).
2. К. В. Алексеев, Е. В. Блынская, С. А. Сизяков и др., *Фармация*, № 6, 49 – 55 (2009).
3. Y. Rosiaux, V. Jannin, S. Hughes, et al., *J. Control Rel.*, No. 188, 18 – 30 (2014).
4. Т. А. Смирнова, А. В. Жемайтук, *Мед. ж.*, № 3, 33 – 44 (2009).
5. В. Х. Тимербаев, Е. Е. Биткова, Н. Ю. Зверева и др., *Вестник анестезиол. и реаниматол.*, **11**(2), 79 – 82 (2014).
6. А. Т. Бурбелло, А. В. Шабров, П. П. Денисенко, *Современные лекарственные средства*, Нева, Санкт-Петербург (2003), сс. 154 – 155.
7. V. Bühler, *Polyvinylpyrrolidone excipients for pharmaceuticals*, Springer, Heidelberg (2005), pp. 217 – 218.
8. A. Avdeef, *Cur. Top Med. Chem.*, **1**(4), 277 – 351 (2001).
9. E. Shoghi, E. Fuguet, E. Bosch, et al., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **48**(1 – 2), 291 – 300 (2013).
10. И. Е. Шохин, Ю. И. Кулинич, Г. В. Раменская и др., *Хим.-фарм. журн.*, **45**(7), 37 – 40 (2011); *Pharm. Chem. J.*, **45**(7), 415 – 418 (2011).
11. М. Ф. Меркулов, И. Б. Малюгина, *Фармакол. и токсикол.*, № 3, 362 – 375 (1969).

Поступила 23.04.15

FORMULATION DEVELOPMENT AND STUDY OF PROLONGED DRUG RELEASE FROM AMBEN PREPARATIONS BASED ON HYDROPHOBIC MATRICES

G. O. Nifontova^{1,2*}, O. V. Dolotova¹, I. V. Sarantseva¹, A. R. Akhmetzyanova³, S. P. Krechetov¹, and I. I. Krasnyuk²

¹ Life Sciences Center, Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudnyi, Moscow oblast, Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University; Moscow, 119991 Russia

³ Farmzashchita Research and Production Center, Federal Medico-Biological Agency, of Russian Federation; Khimki, Russian Federation, Khimki, Moscow oblast, 141402 Russia

* e-mail: galya.nif@yandex.ru

The work is devoted to developing optimum composition and studying drug release from peroral preparation of 4-aminomethylbenzoic acid (amben) based on hydrophobic lipid polymer matrices. Results showed that the proposed polymer matrices ensure the obtaining of desired parameters of prolonged drug release with allowance for the solubility of amben at various pH.

Keywords: hydrophobic matrices; amben; prolonged drug release.