

Э. М. Султанова, М. Ж. Орипова, Ю. И. Ощепкова\*, Ш. И. Салихов

## ГЕЛЕОБРАЗНАЯ КОМПОЗИЦИЯ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И МЕГОСИНА

Институт биоорганической химии имени академика А. С. Садыкова Академии наук Республики Узбекистан, Узбекистан, 100125, Ташкент, ул. Мирзо-Улугбека, 83.

\* e-mail: joshepkova05@rambler.ru

Получены гидрогели хитозана с противовирусным препаратом мегосином. Подобраны условия (концентрации раствора полимера, сшивающего агента и лекарственного вещества) образования гидрогеля без отделения жидкой фазы. Показана возможность пролонгированного высвобождения мегосина из разработанного хитозанового гидрогеля. Доказано, что мегосин, содержащийся в гелях, при вагинальном введении не проникает в кровь и органы. Проведено изучение кинетики высвобождения мегосина из хитозановых гидрогелей. 59 % мегосина высвобождается из геля в течение 7 ч.

**Ключевые слова:** хитозан; мегосин; генитальный герпес.

Одним из самых распространенных заболеваний вирусной этиологии во всем мире считается генитальный герпес. Ни один из известных противовирусных препаратов не способен элиминировать вирус герпеса из организма [1, 2]. Однако в последнее время появляется все большее количество устойчивых к ацикловиру (и подобным ему препаратам) вирусов. Установлено, что у больных рецидивирующим герпесом процесс образования интерферона значительно снижен по сравнению со здоровыми людьми [2, 3]. Поэтому в терапии герпеса используют индукторы эндогенного интерферона [4, 5].

Одним из противовирусных препаратов является мегосин, получаемый на базе Института биоорганической химии Академии наук Республики Узбекистан [8/118/1 от 27.09.2013].

Мегосин — производное госсипола (рис. 1), получаемое взаимодействием госсипола с натриевой солью  $\beta$ -аминоэтилсерной кислоты.

Применяется в виде 1 % мази при лечении герпетических поражений кожи и слизистых оболочек для взрослых (герпес генитальный, цервицит, эрозия шейки матки). Разрешено применение приказом Министра здравоохранения СССР № 914 от 04.08.1983 г. [6].

Мегосин способен индуцировать в самом организме  $\alpha, \beta, \gamma$ -интерфероны. Поэтому мегосин, влияя на систему интерферона, оказывает опосредованно свое противовирусное действие [7, 8].

Обычные вагинальные системы доставки — кремы, пены и желе — относительно недолго удерживаются внутри организма из-за самоочищающего действия вагинального тракта. При этом уменьшается период удерживания лекарственного средства (ЛС), увеличивается доза и частота приема препарата. Это в конечном итоге приводит к неудобству для пациента. Для увеличения времени пребывания ЛС на поверхности слизистой и повышения эффективности терапии целесообразно добавлять в состав лекарственных форм специальные мукоадгезивные добавки [9]. Одной из перспективных добавок такого рода может быть хитозан.

Хитозан — это катионный аминополисахарид природного происхождения. Хитозан обладает высокой химической и биологической стойкостью, высокой механической прочностью, достаточной проницаемостью, характеризуется высокой гидрофильностью и малой растворимостью, легко активируется для ковалентного связывания с БАВ [10]. Искусственная кожа — пленка, изготовленная на основе хитозана, не вызывает реакции отторжения, она легко срастается с тканями, так как она (и продукты ее деградации) являются питательной средой для роста собственных клеток кожи [11, 12].

Применение хитозана в медицине и фармацевтике обусловлено такими его свойствами, как способность к биодegradации, биосовместимость, отсутствие токсичности, мукоадгезия, способность оказывать антиоксидантное, антибактериальное, противовирусное действие [13 – 15]. Соединение антибактериальных свойств хитозана, противовирусных свойств мегосина даст возможность более эффективного лечения генитального герпеса. Использование мукоадгезивного вагинального геля с пролонгированным высвобождением ЛС продлевает действие препарата, улучшает биодоступность [16]. В комбинации с лекарственными веществами хитозан способен пролонгировать их действие [17, 18].

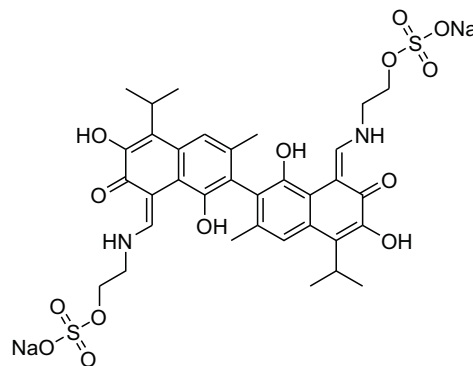


Рис. 1. Структура мегосина.

Целью настоящей работы является разработка вагинального геля с мукоадгезивными, антибактериальными и противовирусными свойствами для обеспечения более продолжительного действия на месте заражения с использованием естественного полимера хитозана и противовирусного препарата мегосина.

### Экспериментальная часть

Для достижения поставленной цели применялись следующие лекарственные и вспомогательные вещества: мегосин, полученный взаимодействием госсипола с натриевой солью  $\beta$ -аминоэтилсерной кислоты, чистота 99,8 %; хитозан, полученный деацетилированием хитина из панциря креветок (Sigma Aldrich); спирт этиловый, триполифосфат натрия (х.ч.).

Гель с мегосином получали с использованием хитозана в качестве гелеобразующего вещества. Хитозан диспергировали в уксусной кислоте (1–4 %), а затем оставляли на ночь, чтобы обеспечить полную растворимость. Мегосин первоначально растворяли в 50 % этаноле и добавляли к полимерной основе при непрерывном перемешивании. К 10 мл раствора хитозана определенной концентрации в водном растворе уксусной кислоты добавляли при постоянном перемешивании 2 мл водного раствора триполифосфата натрия (1,4–5,6 %).

Определение содержания мегосина проводили спектрофотометрически (UV-5100/VIS, METASH, Китай) при 384 нм. С этой целью взвешивали точное количество геля и растворяли в 0,1 % уксусной кислоте с лаурилсульфатом (1 % масс./об.).

Для исследования кинетики высвобождения мегосина из геля точное количество геля помещали в диализный мешок, пропускающий вещества с молек. массой менее 10 кДа, помещали в 0,558 мМ раствор молочной кислоты (рН 4,5) и выдерживали при температуре 37 °С. Через каждый час в течение 7 ч отбирали аликвоты и количественное содержание выделившегося мегосина определяли спектрофотометрически при

$\lambda = 384$  нм. Предварительно была построена калибровочная кривая по мегосину.

Измерение ИК-спектров проводили при комнатной температуре на Фурье спектрометре “Shimadzu” IR Prestige 21 (Япония) с разрешением  $2 \text{ см}^{-1}$  и числом сканирований — 60. Образцы были приготовлены по стандартной методике в матрице из плавленного NaCl.

Исследование всасывания мегосина из хитозанового гидрогеля в кровь проводили на белых беспородных крысах-самках массой 180–200 г по 5 животных в каждой группе, 3 контрольных крысы, всего использовали 23 особи. Опыты на животных проводили в соответствии с правилами “Европейской Конвенции защиты животных, используемых в экспериментах и других научных целях” [19]. Вводили 1 г геля интервагинально крысам. Данный 1 г геля содержал 100 мкг мегосина.

Через 1 и 3 ч крыс декапитировали и отбирали кровь, почки и печень. Кровь и органы лиофильно сушили, измельчали и экстрагировали мегосин смесью ацетон – вода в соотношении 3:1 (v/v). Количественное определение мегосина проводили методом ВЭЖХ. Условия ВЭЖХ: хроматограф Agilent Technologies 1200 с DAD детектором; колонка  $9,4 \times 250$  мм Eclipse XDB C18, 5  $\mu\text{m}$ ; подвижная фаза: А – 0,1 % ТФУК, В – ацетонитрил; скорость потока – 2,5 мл/мин; градиент – от 10 до 15 % ацетонитрила в течение 28 мин. Поглощение при 254 нм, референт – 360 нм.

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя “мастер диаграмм” электронных таблиц Microsoft Excel, число экспериментов  $n = 5$ . Конечный результат выражали как  $M \pm m$ ,  $M$  – средняя величина.

### Результаты и их обсуждение

Были получены гидрогели хитозана с противовирусным препаратом мегосином (рис. 1), сшитые триполифосфатом натрия (ионная сшивка). Получение гелей проводили при использовании концентраций хитозана (2–5 %), сшивающего вещества триполифосфата натрия (1,4–5,6 %), мегосина (1–2 мг). рН всех полученных хитозановых гидрогелей находится в пределах от 3,78 до 4,67.

Состав полученных гидрогелей приведен в табл. 1.

Гели с концентрацией хитозана 5 % и гели с концентрацией триполифосфата натрия 5,6 % были исключены из дальнейших исследований, так как при этих концентрациях образцы становятся слишком густыми и не могут быть равномерно нанесены на субстрат, в том числе на слизистую оболочку.

Для подтверждения модификации хитозана триполифосфатом натрия проведена ИК-спектроскопия мегосина, хитозана и новых гелей мегосина с хитозаном (рис. 2). Структурная перестройка, происходящая при модифицировании хитозана триполифосфатом, сопровождается изменениями в спектрах. Наблюдается низкочастотное смещение и заметное уширение полос поглощения, соответствующих колебаниям  $\nu(\text{OH})$  и

Таблица 1

Состав гидрогелей мегосина с хитозаном

Концентрация хитозана, %	Концентрация триполифосфата натрия, %	Количество мегосина, мг
2	1,4	1
2	1,4	2
2	2,8	1
2	2,8	2
2	5,6	1
2	5,6	2
4	0	1
4	1,4	1
4	2,8	1
4	5,6	1
5	5,6	1
5	0	1

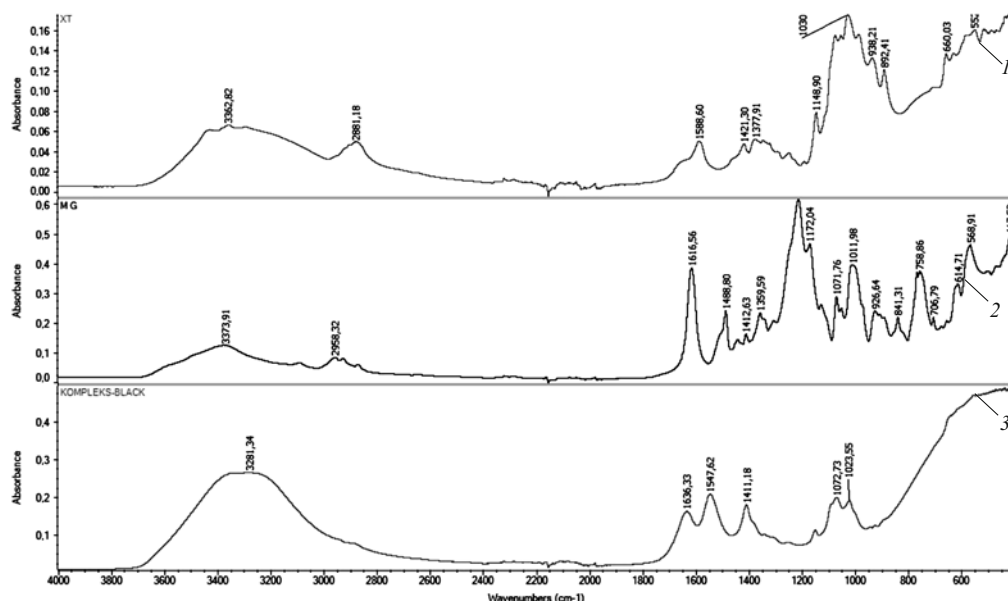


Рис. 2. ИК-спектры: 1 – хитозана; 2 – мегестина и 3 – комплекса хитозана с мегестином.

$\nu(\text{NH})$ , что указывает на образование дополнительных водородных связей в матрице сшитого хитозана. Происходит увеличение интенсивности и сдвиг в область низких частот полосы деформационных колебаний  $\delta(\text{NH}_2)$ , что указывает на вовлечение этих групп в связывание с  $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$  анионами. Кроме того, появляются полосы при  $1217 - 1214 \text{ см}^{-1}$ , соответствующие колебаниям  $\nu(\text{P}=\text{O})$ .

В мегестине наблюдаются сигналы имеющихся сульфогрупп в области  $1030 \text{ и } 1210 \text{ см}^{-1}$ , исчезающие в комплексе хитозан – мегестин за счет образования ионной связи.

Одним из важных показателей при разработке лекарственного геля является скорость высвобождения действующего вещества из геля. В связи с этим исследовали диффузию мегестина из гидрогеля. Проведен подбор условий, имитирующих естественную среду женского организма. В табл. 2 приведены данные по

выходу мегестина из хитозановых гидрогелей. Как видно из полученных данных, наибольший процент выхода мегестина наблюдается у 2 и 4 % гелей (исключая сшивку 5,6 % триполифосфатом).

Проведены результаты изучения кумулятивного высвобождения мегестина из 4 % хитозановых гидрогелей с содержанием мегестина 1 мг с разной процентной сшивкой триполифосфатом в течение 7 ч в условиях, имитирующих естественную среду женского организма *in vitro* (рис. 3). Показано, что наиболее контролируемое высвобождение мегестина происходит из 4 % хитозанового геля без сшивки и с малой сшивкой триполифосфатом.

По результатам выхода мегестина из геля для исследований всасывания в кровь был выбран 4 % гель без сшивки. В крови и органах (почках и печени) крыс действующего вещества – мегестина – не обнаружено. Следовательно, не происходит всасывания мегестина из хитозанового гидрогеля в кровь, что дает возможность предположить создание лекарственного средства, обладающего местным действием. В течение 7 ч

Таблица 2  
Кинетика высвобождения мегестина из хитозановых гидрогелей

Состав геля			Выход мегестина из геля за 7 ч, %
хитозан, %	мегестин, мг	триполифосфат натрия, %	
2	1	1,4	$20,7 \pm 2,3$
2	2	1,4	$25,9 \pm 1,1$
2	1	2,8	$46,7 \pm 2,6$
2	2	2,8	$32,9 \pm 0,9$
4	1	0	$59,9 \pm 1,8$
4	1	1,4	$51,6 \pm 0,7$
4	1	2,8	$44,9 \pm 1,4$
4	1	5,6	$12,0 \pm 0,7$
5	1	0	$11,1 \pm 2,1$
5	1	1,4	$6,7 \pm 0,7$

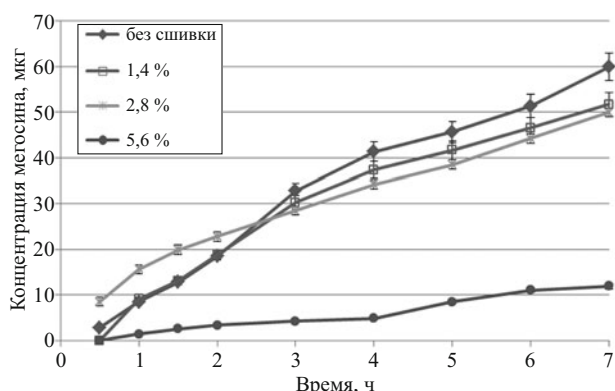


Рис. 3. Кумулятивное высвобождение мегестина из хитозановых гелей.

59 % мегосина равномерно высвобождается из геля. Проведенные эксперименты коррелируют с данными других исследований лекарственных гелей на основе хитозана, в частности, интерполиэлектrolитный гидрогель на основе хлорида хитозана и цитрусового пектина способствует важнейшему для фармакологии свойству – пролонгированию высвобождения митомидина С, в течение 8 ч митомидин С высвобождается примерно на 40 – 45 % [20].

Использование полученных хитозановых гелей с мегасином в медицинской практике позволит уменьшить дозу мегосина и частоту применения самого геля, что сделает гель более удобным в применении.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Sauerbrei, *Infect Drug Resist.*, **9**, 129 – 141 (2016).
2. В. А. Аковбян, С. А. Масюкова, Е. В. Владимирова, *Клини. микробиол. и антимикроб. тер.*, **5**(1), 4 – 18 (2003).
3. В. А. Исаков, А. Л. Коваленко, А. Р. Романцов, *Клини. мед.*, **3**, 54 – 57 (2011).
4. В. А. Исаков, Д. В. Исаков, *Клини. мед.*, **4**, 16 – 24 (2015).
5. Н. В. Шперлинг, А. В. Шаропина, *Сиб. мед. ж.*, **24**(1 – 2), 104 – 107 (2009).
6. ФС на субстанцию мегосина (ФС 42 Уз-0103-2015), на стандартный образец (ФС 42 Уз-0102-2015), на мазь мегосина 1 % (ФС 42 Уз-0648-2007).
7. Н. И. Барам, А. И. Исмаилов, Х. Л. Зияев, К. Ж. Режепов, *Химия природ. соедин.*, **3**, 171 – 176 (2004).
8. В. М. Жданов, Х. А. Асланов, Ф. М. Ершов и др., А. с. СССР 1062919 (1977).
9. A. H. Kutscher, E. V. Zegarelli, F. E. Beube, et al., *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, **12**, 1080 – 1089 (1959).
10. К. Г. Скрябин, Г. А. Вихоревая, В. П. Варламов, *Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение*, Наука, Москва (2002).
11. А. А. Гришин, Н. В. Зорина, В. И. Луцкий, *Известия вузов. Приклад. химия и биотехнол.*, **1**(6), 29 – 34 (2014).
12. M. Sato, H. Onishi, J. Takahara, *Biol. Pharm. Bul.*, **19**(9), 1170 – 1177 (1996).
13. T. A. Sonia, C. P. Sharma, *Adv. Polymer Sci.*, **243**, 23 – 53 (2011).
14. I. Aranaz, M. Mengnbar, R. Harris, et al., *Cur. Chem. Biol.*, **3**, 203 – 230 (2009).
15. Shiva Kumar, *React. Funct. Polymers*, **46**, 1 – 27 (2000).
16. Shiva Kumar Yellanki, Naveen kumar Nerella, Sharada Goranti and Sambit Kumar, *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, **3**, 1746 – 1750 (2010).
17. F. Ahmadi, Z. Oveisi, S. M. Samani and Z. Amoozgar, *Carbohydrate Polymers*, **106**, 109 – 120 (2014).
18. Z. Oveisi, S. M. Samani and Z. Amoozgar, *Res. Pharm. Sci.*, Jan-Feb, **10**(1), 1 – 16 (2015).
19. Европейская конвенция “О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях” (1986); [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.lawmix.ru/abro.php?id=11036>.
20. Р. Р. Вильданова, Н. Н. Сигаева, Е. А. Фаянова и др., *Вестник Башкирского универ.*, **22**(1), 72 – 76 (2017).

Поступила 15.08.19

## CHITOSAN BASED HYDROGEL COMPOSITION WITH ANTIVIRAL DRUG MEGOSINE

E. M. Sultanova, M. Zh. Oripova, Yu. I. Oshchepkova\*, and Sh. I. Salikhov

A. S. Sadykov Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, 100125 Uzbekistan

\* e-mail: [joshchepkova05@rambler.ru](mailto:joshchepkova05@rambler.ru)

Chitosan hydrogels containing the antiviral drug megosine were obtained. Conditions (concentrations of polymer solution, cross-linking agent, and drug substance) were selected so as to form a hydrogel without separation of the liquid phase. The possibility of prolonged release of megosine from the developed chitosan hydrogel was demonstrated. It is established that megosine contained in the gel administered vaginally does not penetrate into the blood and organs. Study of the kinetics of megosine release from chitosan hydrogels showed that 59% of the drug is released from gel within 7 h.

**Keywords:** chitosan; megosine; hydrogel; genital herpes.