

И. В. Алексеева, Т. Е. Рюмина, В. И. Панцуркин, Т. Ф. Одегова

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОРАСТВОРИМЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЛЕНОК С АНИЛОКАИНОМ

Пермская государственная фармацевтическая академия

На основании проведенных технологических и биофармацевтических исследований на основе отечественного местного анестетика анилокаина, обладающего значительной поверхностноанестезирующей, противовоспалительной и умеренной антимикробной активностью разработаны составы перспективных лекарственных форм полифункционального действия — биорастворимых лекарственных пленок для лечения заболеваний в челюстно-лицевой области.

Изучение состояния стоматологической помощи за последние пять лет показывает, что прирост заболеваний и повреждений органов полости рта за счет профилактических мероприятий снизился. Решение проблемы оказания стоматологической помощи во многом зависит от широкого внедрения в практику эффективных, простых и доступных средств и методов лечения. Усиленное развитие научных исследований в области биофармации убедительно показало, что важное значение для эффективного лечения заболеваний имеет правильно выбранная лекарственная форма, которая обеспечивает и удобство применения, и целенаправленное использование действия содержащегося в ней фармакологически активного препарата. С этой точки зрения использование пролонгированных лекарственных форм полифункционального действия — биорастворимых лекарственных пленок (БЛП) — открыло новые возможности для лечения заболеваний в челюстно-лицевой области.

Учитывая необходимость снятия болевых ощущений и воспалительных процессов, целесообразно использовать в качестве основного действующего компонента новый отечественный местный анестетик — анилокаин, обладающий значительной поверхностноанестезирующей активностью [1]. Ценным свойством анилокаина является наличие противовоспалительной и умеренной антимикробной активности, чем он выгодно отличается от применяемых в медицинской практике местных анестетиков [2].

Экспериментальная часть

Материалы. Все лекарственные препараты: анилокаин (ФС 42-2846-97), диоксидин (ФС 42-2308-97) фармакопейного качества; пленкообразователи — натрий карбоксиметилцеллюлоза (ОСТ 6-55-39-90), натрия альгинат для медицинских целей (ФС 42-3383-97), Бланозе Целлюлозе Гам (МФ 3-е изд., Т. 4, с. 196), Натросол (МФ 3-е изд., Т. 4, с. 228), желатин медицинский (ГФ X изд., с. 331), полимер биорастворимый (ВФС-42-439-75), агар-агар (ГФ X изд., с. 866); пластификаторы — глицерин (ФС 42-2202-99), кислота лимонная пищевая (ГОСТ 908-70), ПЭГ-400 (ВФС 42-1242-79).

Определение средней массы. Среднюю массу образца пленки размером 1 × 2 см (средняя терапевтическая доза) определяли взвешиванием 10 пленок с точностью до 0,0002 г. Массу отдельных пленок определяли взвешиванием

порознь 20 образцов с точностью до 0,0002 г. Отклонение в массе для пленок до 0,1 г и менее не должно превышать ± 10 % [3].

Определение толщины проводили с помощью пикнометра МКС-25 (ГОСТ 6507-78).

Определение времени растворения. Образец пленки размером 1 × 2 см растворяли в 2,5 мл воды очищенной комнатной температуры при периодическом встряхивании, не допуская прилипания пленки к стенкам пробирки, секундомером измеряли время полного растворения пленки.

Определение рН водного раствора. Определение проводили потенциометрическим методом (ГФ XI, вып. 1, стр. 113). Образец пленки массой 0,5 г растворяли в 50 мл воды очищенной комнатной температуры, перемешивали и регистрировали рН водного раствора пленки.

Определение потери в массе при высушивании. Около 0,05 г пленки (точная навеска) помещали в предварительно высушенный до постоянной массы бюкс и высушивали в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С до постоянной массы. Постоянная масса считалась достигнутой, если разница между взвешиванием после 30 мин высушивания и 3 мин охлаждения в эксикаторе не превышала 0,0005 г.

Потерю в массе при высушивании определяли по формуле:

$$X = \frac{M - M_1}{M} \cdot 100\%,$$

где X — потеря в массе при высушивании, %; M — масса навески до высушивания, г; M_1 — масса навески после высушивания, г.

Определение паропроницаемости. Определение проводили в стеклянных стаканах с навинчивающимися крышками, в центре которых имелись отверстия. Для создания герметичности накладывали резиновое кольцо. В стакан отмеряли 20 мл воды очищенной, исследуемый образец пленки укрепляли под резиновым кольцом, крышку плотно завинчивали. стакан помещали в эксикатор над кислотой серной концентрированной, плотно закрывали и ставили в термостат при температуре 37 °С на 2 ч для достижения равновесия, затем стакан охлаждали в течение 30 мин, взвешивали на аналитических весах и вновь помещали в эксикатор на 4 ч. По истечении этого времени взвешивание повторяли.

Паропроницаемость рассчитывали по формуле:

$$\Pi = \frac{P_1 - P_2}{St} \cdot 100\%,$$

где Π — паропроницаемость, %; P_1 — масса стакана при первом взвешивании, г; P_2 — масса стакана при втором взвешивании, г; S — площадь пленки, через которую происходит испарение, м²; t — время испарения, ч.

Определение механической прочности на разрыв.

По разработанной на кафедре физиологии ПГФА методике [4], предел прочности пленок определяется тензиометрическим методом при растяжении на разрывной установке, основным конструктивным моментом которой являются тарирные весы. Образец пленки размером 0,5 × 4,5 см укрепляли за концы в зажимах установки и под действием переменной нагрузки растягивали образец до разрыва.

Предел прочности рассчитывали по формуле:

$$G = F/S,$$

где G — механическая прочность на разрыв, кг/м²; F — усилие растяжения, кг; S — площадь поперечного сечения образца, м².

Исследование кинетики высвобождения. На дно цилиндра (объемом 150 см³) помещали 0,2 г (точная навеска) БЛП, добавляли 100 мл воды очищенной, опускали платиновые электроды, подключенные к кондуктометру марки НИ 8733. Уровень жидкости должен превышать верхние края электродов. В ходе эксперимента система термостатировалась. Интервал температур составлял от 293 до 333 К, что обеспечивалось использованием контактного термометра (ГОСТ 9871–75). Через определенные промежутки времени измеряли удельную электрическую проводимость (χ , см × м⁻¹). Перед каждым замером проводили перемешивание акцепторной фазы. По результатам эксперимента строили кривые динамики высвобождения ЛВ из образцов пленок.

Исследование антимикробной активности. Исследование антимикробной активности диоксидаина проводили двумя методами по отношению к тест-культуре *Staphylococcus aureus* (штамм АТСС 6538-Р) методом диффузии. В лунки чашки Петри вносили по 0,2 г пленки, после чего инкубировали 18 ч при температуре 37 °С.

Далее проводили измерения диаметра зон задержки роста бактерий.

Результаты и их обсуждение

Выбор оптимального состава БЛП, обеспечивающего необходимые технологические и потребительские свойства, осуществлялся в три этапа.

Среди фармацевтических факторов, влияющих на терапевтическую активность лекарственных средств, важную роль играют вспомогательные вещества, их природа и количество. Поэтому на первом этапе проводился отсеивающийся эксперимент, цель которого — отбор пленкообразователей и пластификаторов, способных сформировать пленку-матрицу для последующего введения в нее лекарственного вещества (ЛВ).

В ходе эксперимента изучены пленкообразующие свойства растворов полимеров природного и синтетического происхождения как отечественного, так и импортного производства в различных концентрациях: производные целлюлозы (Na КМЦ, Бланозе 7MF и Бланозе 7M8SF, Натросол 250 НХ-Pharm и 250G-Pharm), Na альгинат, агар-агар, желатин, полимер биорастворимый.

С целью придания пленкам необходимой эластичности подбирался оптимальный пластификатор, способный в малой концентрации обеспечить пленкам достаточную пластичность, технологичность и хороший внешний вид. Изучались пластифицирующие свойства глицерина (в концентрации 0,5 – 4,0 %), лимонной кислоты (0,5 – 2,0 %), ПЭГ-400 (0,5 – 2,0 %). Всего изучено 54 композиции.

По итогам предварительных исследований выбрано 10 композиций с удовлетворительным внешним видом, прозрачностью, эластичностью, однородностью, отсутствием микротрещин и разрывов в пленке, данные представлены в табл. 1.

Второй этап исследований заключался в выборе оптимальной композиции матрицы — основы БЛП методом математического планирования — методом обобщенной функции желательности, предложенный Харрингтоном [5]. Критериями отбора служили следующие показатели качества пленок: pH водного раствора; толщина; влажность. По каждому критерию рассчитывались частные и обобщенные функции желательности для каждой из десяти выбранных основ.

На основании результатов обобщенной функции желательности выбраны 5 композиций основ: №№ 1, 2, 5, 7, 9 (рис. 1).

Дальнейшие исследования по выбору пленочных матриц проводили на основании изучения следующих функциональных свойств: внешний вид, толщина, время растворения, pH водного раствора, потеря в массе при высушивании, паропроницаемость, механическая прочность на разрыв. Результаты по изучению показателей качества представлены в табл. 2.

Установленные экспериментальные значения свидетельствуют об удовлетворительном качестве матриц.

Окончательный выбор наиболее оптимальной композиции основы был сделан по результатам исследования кинетики высвобождения анилокаина из выбранных составов. Терапевтическая концентрация анилокаина составляла 5 % [6] в пересчете на сухую массу пленки.

Таблица 1

Составы выбранных композиций

Состав основы	Содержание компонентов, %				
	Na КМЦ	Na альгинат	Натросол 250 G	Бланозе 7M 8SF	Глицерин
1	3,0		4,0		2,0
2	3,0				1,0
3	4,0				2,0
4	0,5	2,5			2,0
5		3,0			2,0
6		2,0			1,5
7		4,0			2,0
8				3,0	1,5
9			3,0		0,5
10	3,0			1,0	1,0

Ранее было установлено [7], что лимитирующей стадией процесса растворения пленок и высвобождения из них лекарственного вещества является биодеструкция полимера, причем активное начало высвобождается по мере рассасывания полимера. Гидрофильные полимерные матрицы при контакте с водой или биологической жидкостью изменяют свои физико-химические свойства, происходит их набухание и растворение.

С целью оптимизации изучения кинетики высвобождения лекарственного вещества из БЛП использовали кондуктометрический метод анализа, обладающий высокой чувствительностью и точностью, надежностью и быстротой. По мере растворения полимерных матриц увеличивалась электропроводимость раствора. Этот показатель и использовали для количественной оценки процесса растворения. В кондуктометрическую ячейку помещали навеску полимерной пленки 0,2 г, добавляли 100 мл воды очищенной, обладающей согласно требованиям небольшой электропроводимостью. Для устранения погрешностей измерений, связанных с изменением температуры исследуемых растворов, применяли схему температурной коррекции. В условиях проводимого эксперимента сопротивление мембраны диффузионному потоку лекарственного вещества было равно нулю: ее функцию выполняла вода, имитирующая кровеносную систему организма, что обеспечивало полное высвобождение компонентов матрицы. Влияние диффузии на кинетику процесса стремились исключить путем перемешивания среды, что приводило к уменьшению толщины диффузионного слоя и увеличению константы скорости диффузии. Критерием количественной оценки процесса растворе-

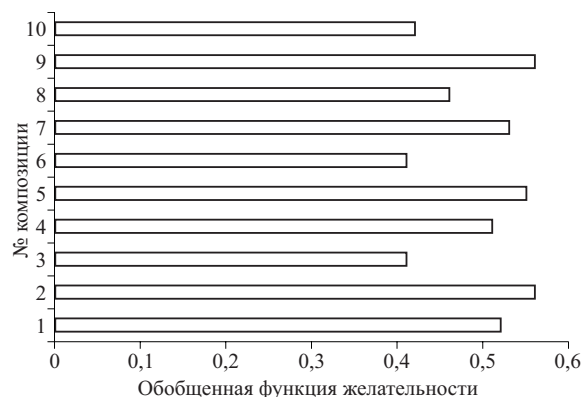


Рис. 1. Обобщенные функции желательности различных пленочных композиций

ния являлась величина удельной электропроводимости (κ , $\text{см} \cdot \text{м}^{-1}$), которую измеряли через определенные интервалы времени на кондуктометре. В дальнейшем ее значение связывали с концентрацией лекарственного вещества, используя калибровочные графики, которые имели линейную зависимость в выбранном интервале концентраций лекарственного вещества. Так как значение удельной электропроводимости обладает свойством аддитивности и складывается из проводимостей всех компонентов, т. е. ионов плацебо и лекарственного вещества, изучали кинетику растворения БЛП как с лекарственным веществом, так и без него.

Как показано на рис. 2, при равных условиях проведения эксперимента с увеличением времени значение уде-

Т а б л и ц а 2

Определение технологических параметров плёнок ($n = 5$)

Состав	Средняя масса, г	Толщина, мм	Время растворения, мин.	Влажность, %	Паропроницаемость, %	Механическая прочность на разрыв, $\sigma \cdot 10^{-5}$, Н/м ²
Натросол 250G – 3,0 глицерин – 0,5	0,046595 ± 0,004	0,159 ± 0,015	2,10 ± 0,1	10,47 ± 0,30	109,94 ± 0,39	9,98 ± 0,02
Na КМЦ – 3,0 глицерин – 1,0	0,048810 ± 0,003	0,169 ± 0,018	3,30 ± 0,1	10,39 ± 0,40	100,55 ± 0,20	11,40 ± 0,04
Na КМЦ – 3,0 глицерин – 2,0	0,049233 ± 0,003	0,152 ± 0,015	3,45 ± 0,1	9,93 ± 0,50	112,4 ± 0,16	12,40 ± 0,04
Na альгинат – 3,0 глицерин – 2,0	0,050310 ± 0,003	0,159 ± 0,019	2,20 ± 0,2	9,49 ± 0,01	99,72 ± 0,16	10,25 ± 0,02
Na альгинат – 4,0 глицерин – 2,0	0,048792 ± 0,002	0,169 ± 0,016	4,30 ± 0,2	10,12 ± 0,08	97,78 ± 0,56	13,22 ± 0,01

Т а б л и ц а 3

Контроль качества БЛП ($n = 5$)

Состав	Толщина, мм	Время растворения, мин	Влажность, %	Паропроницаемость, %	pH водного раствора	Механическая прочность на разрыв, $\sigma \cdot 10^{-5}$, Н/м ²
Анилокаин Диоксидин Na КМЦ Глицерин	0,154 ± 0,004	3,45 ± 0,34	7,41 ± 0,32	121,11 ± 15,80	8,32 ± 0,02	13,21 ± 0,1
Анилокаин Диоксидин Натросол 250 G Глицерин	0,142 ± 0,005	2,23 ± 0,08	6,13 ± 0,33	105,87 ± 8,09	7,31 ± 0,01	10,25 ± 0,01

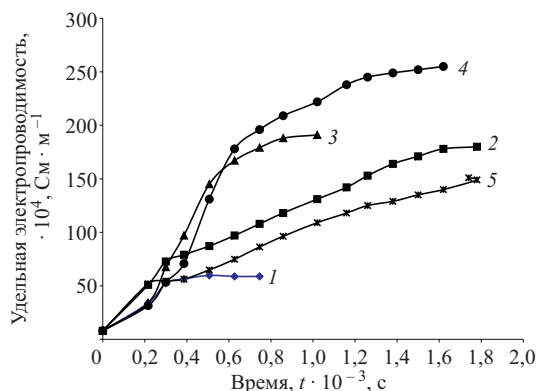


Рис. 2. Зависимость удельной электропроводимости от времени для БЛП с различными основами: 1 – Натросол 250 G – 3,0, глицерин – 0,5; 2 – Na КМЦ – 3,0, глицерин – 2,0; 3 – Na альгинат – 3,0, глицерин – 2,0; 4 – Na альгинат – 4,0, глицерин – 2,0; 5 – Na КМЦ – 3,0, глицерин – 1,0

льной электропроводимости возрастает для всех пяти полимерных матриц, т. е. увеличивается количество высвобождаемых ионов в воду. Более быстрое растворение пленок наблюдается на основе Натросол 250G-Pharm.

При проведении кондуктометрического метода исследования определяли порядок реакции и константы скорости релиза. Для этого использовали графический метод. В нашем случае зависимость была линейная в координатах $\ln(\alpha_{\max} - \alpha_i) = f(t_i)$ (α_{\max} — максимальная удельная электропроводимость при полном растворении лекарственной пленки; α_i — удельная электропроводимость в данный момент времени), что соответствовало реакции первого порядка.

По этим же экспериментальным данным графически были определены константы скорости растворения. Их находили как тангенс наклона прямой к положительному направлению оси абсцисс. Они имели следующие значения:

$$k_1 = 6,23; k_2 = 5,12; k_3 = 2,11; k_4 = 1,14 \times 10^{-7} \text{ с}^{-1}.$$

То есть константа скорости релиза у основы Натросол 250G-Pharm больше, чем у основы на Na КМЦ в 5,5 раз ($k_1 > k_4$ в 5,5 раз). Пленки на основе Натросол 250G-Pharm могут быть использованы для быстрого эффекта снятия болевых ощущений. БЛП на других основах (Na КМЦ, Na альгинат) могут быть отнесены к пролонгированным лекарственным формам.

На следующем этапе работы проводились исследования по введению антимикробного компонента в БЛП, так

как оперативные вмешательства, проводимые в полости рта, характеризуются потенциально высоким риском возникновения инфекционно-воспалительных осложнений. Для этого в БЛП вводился антимикробный препарат широкого спектра действия — диоксидин в концентрациях 1, 1,5 и 2 %.

При выборе концентрации антисептика ориентировались на минимальную, при которой проявляется высокая антимикробная активность. Такому условию отвечает диоксидин с концентрацией 1 % (d задержки роста по отношению к стафилококку золотистому на основе Na КМЦ 35 мм, а на основе Натросол 34 мм).

При получении БЛП использовался метод полива как наиболее приемлемый и простой в исполнении, не требующий сложной аппаратуры и специальных приспособлений. Получаемые пленки соответствовали предъявляемым требованиям.

Критериями оценки качества БЛП служили такие технологические параметры, как паропроницаемость, механическая прочность на разрыв, толщина пленок, потеря в массе при высушивании, pH водного раствора. Результаты исследования технологических параметров представлены в табл. 3. На основании полученных данных можно говорить о высокой порозности, достаточной прочности, относительно небольшой влажности и оптимальной pH БЛП, удовлетворяющих основным медико-технологическим требованиям.

Таким образом, в ходе проведенных исследований разработан состав и технология биорастворимых лекарственных пленок с анилокаином. Состав рекомендован для доклинических испытаний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. В. Хорошкова, В. И. Панцуркин, В. С. Шкляев и др., Патент РФ № 1146989 от 10.08.93 г.
2. В. И. Панцуркин, В. Э. Колла, Т. Ф. Одегова и др., Патент РФ № 2139050 от 23.07.96 г.
3. В. А. Васильев, *Мат. науч.-практ. конф.*, Харьков (1990), сс. 52 – 55.
4. С. М. Горбунов, И. В. Заиконникова, Н. Г. Абдрахманова, *Фармакологическая регуляция регенераторных процессов в эксперименте и клинике*, Йошкар-Ола (1979), сс. 100 – 104.
5. В. Г. Беликов, В. Д. Пономарев, Н. А. Коровкин-Щербак, *Применение математического планирования и обработка результатов экспериментов в фармации*, Медицина, Москва (1973).
6. И. В. Алексеева, *Дисс. канд. фармац. наук*, Пермь (1999).
7. Т. Е. Рюмина, Л. Н. Олешко, О. А. Блинова, *Фармация*, № 3, 22 – 24 (2001).

Поступила 29.03.05

BIOPHARMACEUTICAL INVESTIGATIONS OF BIODEGRADABLE MEDICINAL FILMS CONTAINING ANILOCAINE

I. V. Alekseeva, T. E. Ryumina, V. I. Pantsurkin, and T. F. Odegova

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

The results of technological and biopharmaceutical investigations of the domestic local anesthetic anilocaine (possessing significant surface anesthetic, antiinflammatory, and moderate antimicrobial properties) were used to develop compositions of the promising multifunctional medicinal forms, including biodegradable films for the treatment of disorders in the maxillofacial area.