

Д. Т. Бобокалонов¹, Г. Ф. Касымова¹, З. К. Мухидинов¹, А. С. Джонмуродов¹,
Д. Х. Халиков¹, Лин-Шу Ли²

КИНЕТИКА ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ПИРОКСИКАМА ИЗ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ НИЗКОМЕТИЛИРОВАННОГО ЦИТРУСОВОГО ПЕКТИНА И ЗЕИНА

¹ Институт химии им. В. И. Никитина Академии наук РТ, Душанбе, Республика Таджикистан;

² Восточный региональный исследовательский центр Госдепартамента США по сельскому хозяйству, Филадельфия, США

Исследована кинетика высвобождения пироксикама как модельного лекарства из микросфер, полученных на основе природных биополимеров — пектина и зеина кукурузы в условиях, моделирующих желудочно-кишечный тракт. Показано, что лимитирующей стадией высвобождения является не растворение кристаллов ЛВ в микросферах, а диффузия пироксикама из полимерных микросфер различного состава. Результаты исследований демонстрируют эффективность использования подобной системы в качестве носителей лекарственных препаратов с контролируемым высвобождением, способных длительное время (36 и более часов) осуществлять контролируемое высвобождение лекарственного вещества с учетом диффузии и ферментативного разложения.

Ключевые слова: пектин, зеин, микросферы, носители лекарственных средств, кинетика высвобождения, пироксикам

Традиционное введение лекарственных форм характеризуется быстрым и неконтролируемым высвобождением активных компонентов лекарственных веществ (ЛВ) в организме. Разработка лекарственных форм с направленной доставкой и контролируемым высвобождением ЛВ позволит повысить эффективность, удерживать постоянный уровень их терапевтической концентрации в плазме крови и, тем самым, открывает возможность использования принципиально новых групп действующих веществ. Как показала практика, такая система доставки лекарственных веществ (СДЛ) даст возможность уменьшить курсовую дозу, устранить раздражающее действие и передозировку ЛВ, уменьшить частоту проявлений побочных эффектов. Идея создания эффективных СДЛ объединяет усилия ученых многих направлений, включая разработку математических моделей, предсказывающих механизм кинетики высвобождения ЛВ из синтезированных СДЛ [1].

Сложность количественного описания кинетики высвобождения ЛВ связана с необходимостью учета специфики состояния полимерной композиции, т.е. ее структуры и морфологии. Более того, среди публикаций в указанной области лишь крайне ограниченное число работ описывает транспорт в терапевтических матрицах, полученных из смесевых композиций [2, 3].

В предыдущем сообщении в плане поиска новых терапевтических систем нами представлены результаты разработки и изучения гидрогелей на основе биодеградирующих биополимеров пектина и зеина кукурузы [4].

Цель данной работы заключалась в исследовании кинетики высвобождения ЛВ из разработанных нами СДЛ в условиях, моделирующих желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), с учетом диффузии и ферментативного разложения.

СДЛ были получены в виде микросфер на основе пектин-зеиновых комплексов, поперечно сшитых ионами двухвалентных металлов, для транспорта малорастворимого ЛВ в кишечное пространство через верхнюю часть ЖКТ [4].

Получение таких комплексов основывалось на идее создания целенаправленной системы доставки ЛВ, которая обеспечит его целостность в физиологической среде желудка и тонкой кишки. Механизм действия такой системы основан на том, что пектин, стабилизированный поперечными связями ионами металла, способен защитить протеин от воздействия протеаз в верхней части ЖКТ. Зеин, в свою очередь, располагаясь на поверхности и внутри полимерной сетки, будет препятствовать набуханию пектинового геля и быстрому высвобождению лекарства. Однако следует учитывать, что скорость высвобождения лекарства будет также зависеть от типа пектина и пектин-протеинового взаимодействия, плотности упаковки полимерной цепи и структуры самих биополимеров.

Экспериментальная часть

В работе использовали пектин, выделенный из цитрусовых (GENU 12CG, CP Kelco, USA). Характеристика пектина приведена в работе [4].

Для исследования кинетики процесса были приготовлены буферы, моделирующие среду желудка (HCl/KCl 0,2 М, pH 1,2), содержащие гидролитический фермент — пепсин (ацидин пепсин, Белоруссия) и среду кишечника (0,2 М фосфатный буфер, pH 6,4). Высушенные комплексы в количествах 50 мг заливали 50 мл буфера pH 1,2 и pH 6,4 в пробирках с притёртыми пробками. Пробы помещали в термостат при 37 °С, через определённые промежутки времени измеряли на спектрофотометре UV 1 Thermo Spectronic (Англия)

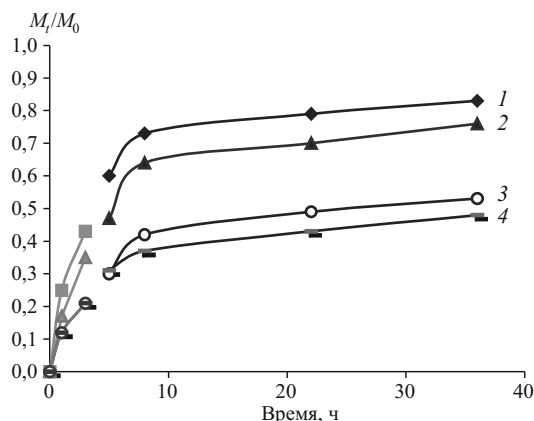


Рис. 1. Кинетика высвобождения пироксикама из пектин-зеиновых микросфер в условиях, моделирующих среду желудка (до 3 ч, рН 1,2) и кишечника (от 3 до 36 ч, рН 6,4). Р/З: 3:1 (1), 1:1 (2), 1:2 (3), 1:5 (4).

экстинкцию растворов при 355 нм и по калибровочному графику, построенному по стандартному пироксикаму (РХ), определяли количество высвобожденного лекарства. Общее количество вовлеченного лекарства в гидрогелевые комплексы M_0 определяли как описано в работе [4]. M_t — количество ЛВ, высвобожденное за время t из гидрогелей.

Представляло интерес исследовать способность данных систем сдерживать влияние протеаз во время прохождения через верхнюю часть ЖКТ. С этой целью изучали кинетику выхода РХ из полученных пектин/зеиновых (П/З) микросфер в искусственно созданной среде желудка и кишечника.

На рис. 1 представлена кинетика высвобождения РХ из П/З микросфер с высоким и низким содержанием цитрусового пектина в условиях, моделирующих среду ЖКТ. Кинетические кривые имеют традиционный характер и достигают устойчивого предела, зависящего от состава композиций, главным образом, от содержания зеина. Начальная стадия кривых в условиях, моделирующих среду желудка, подчиняется кинетике нулевого порядка. При переходе в среду кишечника кинетические кривые выхода ЛВ из гидрогелей принимают сигмоидальную форму (S-форму) и описываются уравнением первого порядка. При понижении соотношения П/З, с увеличением фракции зеина степень набухания гидрогелей понижается, и соответственно замедляется выход ЛВ из гидрогелей.

Таблица 1

Коэффициенты диффузии РХ, рассчитанные по уравнениям 1 и 2, для гидрогелей с различными соотношениями П/З

П/З	РХ в гидрогеле, %	$D_c \cdot 10^9, \text{см}^2/\text{с}$	R^2	$D_1 \cdot 10^9, \text{см}^2/\text{с}$	R^2
3:1	9,8	92,53	0,995	3,62	0,982
1:1	37,0	76,25	0,997	6,37	0,999
1:2	72,6	31,71	0,999	1,18	0,966
1:5	93,8	54,44	0,997	1,48	0,992

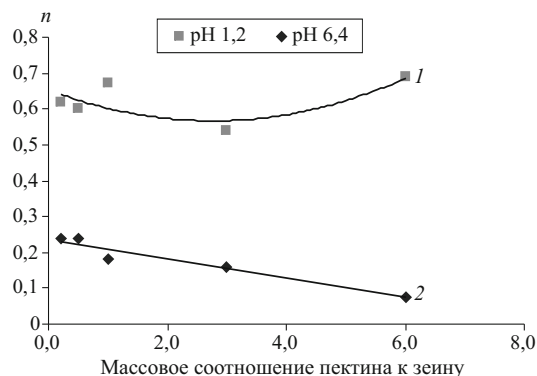


Рис. 2. Зависимость параметра n (уравнение 3), характеризующего механизм диффузии ЛВ в П/З микросферах, от их массового соотношения при рН 1,2 (1) и 6,4 (2).

Полученные результаты подтверждают представленную выше точку зрения: из микросфер с высоким соотношением П/З (3:1) высвобождалось около 30 – 50 вес. % РХ в первые 3 ч инкубации в среде желудка, а оставшееся ЛВ при поступлении СДЛ в среду кишечника высвобождалось по линейному механизму (кинетика нулевого порядка).

С увеличением зеина в составе полимерной композиции (П/З 1:1, 1:2, 1:5) диффузия ЛВ замедляется и только 20 вес. % РХ десорбируется за тот же промежуток времени, остальная часть из микросфер высвобождается по линейному механизму. Несмотря на высокое содержание зеина, гидрогели не подвергались воздействию фермента, присутствующего в составе исследуемой среды.

В технологии конструирования СДЛ уровень диффузии растворенного вещества важен для определения количества высвобожденного ЛВ или транспорта питательных веществ. Диффузия инкапсулированных ЛВ зависит от множества факторов, включая морфологию сети, состав и набухание полимеров, содержание воды, концентрацию растворенных веществ и др. [5]. В случае с пектином влияет также и природа иона двухвалентного металла, образующего поперечные связи с цепочками пектина [6]. Эти основополагающие факторы могут комбинироваться, вызывая химическое или физическое влияние, замедляющее диффузию растворенного вещества. Данные, включающие последние достижения теории математического моде-

Таблица 2

Параметры уравнения 3, k_1 и n для П/З микросфер, полученных на основе цитрусового пектина при рН, моделирующих среду желудка и кишечника

П/З	РХ в комплексе, %	$M_t/M_\infty < 0,5$, рН 1,2			$M_t/M_\infty > 0,5$, рН 6,4		
		$k \cdot 10^2, \text{мин}^{-1}$	n	R^2	$k \cdot 10^2, \text{мин}^{-1}$	n	R^2
6,0	12,4	1,32	0,69	0,99	0,47	0,08	0,92
3,0	19,8	1,48	0,54	0,99	0,93	0,16	0,85
1,0	37,0	1,70	0,67	0,99	1,05	0,18	0,73
0,5	72,6	1,75	0,60	0,92	1,47	0,24	0,80
0,2	93,8	1,50	0,62	0,99	1,52	0,24	0,95

лирования процесса высвобождения ЛВ из различных систем доставки для их количественной характеристики и механизмы, управляющие этим процессом, представлены в [7].

Результаты кинетических измерений, полученные в настоящем исследовании, были обработаны нами согласно предложенным авторами [7] уравнениям для кишечного ($M_t/M_\infty < 0,5$) и желудочного ($M_t/M_\infty > 0,5$) моделирования.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \left(\frac{Det}{\pi \delta^2} \right)^{0,5}, \quad (1)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \exp\left(-\frac{\pi^2 Dlt}{\delta^2}\right), \quad (2)$$

где M_t/M_∞ — относительная масса высвободившегося лекарства в условиях равновесия, t — время, De и Dl — коэффициенты диффузии при кишечном и желудочном моделировании, δ — диффузионный путь.

Полученные таким образом данные диффузии РХ из П/З гидрогелей приведены в табл. 1. Как видно, коэффициент диффузии РХ в начальный период с увеличением доли зеина в гидрогелях снижается, и только при соотношении П/З 1:5 несколько возрастает. В этих условиях, возможно, происходит ионизация аминокислотной группы протеина, что способствует набуханию полимерной сетки и благоприятствует выходу РХ. Однако в условиях среды кишечника коэффициент диффузии РХ меньше на 2 порядка и не изменяется от соотношения биополимеров.

Учитывая, что механизм высвобождения ЛВ зависит от структуры полимерной композиции, ее физического состояния, которые в свою очередь определяются соотношением биополимеров, проводили оценку механизма диффузии ЛВ по уравнению Ритгер-Пеппаса [8]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^n, \quad (3)$$

где k_1 — переменная константа, n — константа, характеризующая коэффициент диффузии и механизм транспорта ЛВ. Это уравнение используется для оценки совместного (парного) вклада диффузии, подчиняющегося закону Фика и высокоэластичной релаксации полимерной системы. При $n = 0,5$ она диффузионная, при $n > 0,5$ показывает аномальный транспорт, не подчиняющийся закону Фика, при $n = 1,0$ предполагает релаксационно-контролируемый транспорт, или так называемый “случай П”.

С целью приближения результатов в реальных условиях при транспорте ЛВ в ЖКТ решение уравнения (3) проводили также для 2 участков кинетических кривых: для малого времени эксперимента — до 4 ч инкубации в среде желудка (рН 1,2), и для большего времени — после 5 ч инкубации в среде кишечника. Значения параметров k_1 и n , полученные таким образом, разделились при условии $M_t/M_\infty < 0,5$ и $M_t/M_\infty > 0,5$.

Анализируя механизм высвобождения с использованием полученных результатов (рис. 2), можно сделать вывод, что десорбция РХ в условиях среды желудка (рН 1,2) при малом времени только из микросфер при соотношении П/З 3:1 носит диффузионный характер ($n = 0,54$), в то время как при других изученных соотношениях П/З указывает на аномальный характер диффузии, слабо подчиняющийся закону Фика.

С увеличением рН среды (6,4) происходит ионизация свободных карбоксильных групп биополимеров, приводящая к набуханию полимерной сетки, поэтому в механизм десорбции ЛВ при кишечном моделировании, кроме того, вносят свой вклад также релаксационные эффекты. В данных условиях $M_t/M_\infty > 0,5$ механизм высвобождения ЛВ носит только диффузионный характер и изменяется от соотношения П/З (рис. 2). Однако рост коэффициента диффузии, вероятно, связан со степенью заполнения гидрогелевых носителей: с возрастанием количества РХ в гидрогелях скорость диффузии растет.

На основе анализа представленных результатов можно предполагать, что РХ, адсорбированный на поверхности микросфер, будет высвобождаться в первые часы инкубации по механизму диффузии и растворения ЛВ независимо от рН среды. Высокая степень высвобождения происходит вследствие релаксации полимерной сетки при воздействии напряжения в процессе набухания полимера в условиях среды. Кроме того, гидрофобные взаимодействия протеина с РХ должны еще больше замедлять выход ЛВ из полимерной сетки. С увеличением содержания зеина при рН 1,2 должны усиливаться релаксационные процессы полимерной сетки за счет ионизации аминокислотных групп, однако этот процесс, из-за малого количества аминокислотных групп в зеине, заметного влияния на скорость диффузии не оказывает. В то время как при рН 6,4 с увеличением доли зеина наблюдается рост скорости диффузии как из-за высокой степени заполнения гидрогелей РХ, так и за счет ионизации карбоксильных групп (в основном пектина). Необходимо отметить, что в микросферах с большим содержанием зеина (табл. 1) высвобождение ЛВ происходит скорее по механизму кооперативной десорбции: чем больше степень заполнения ЛВ микросфер, тем больше скорость диффузии.

Наблюдаемая двухступенчатая скорость высвобождения РХ из комплексов обусловлена, вероятно, различными механизмами взаимодействия РХ с пектином и зеином, которые были показаны ранее [9].

Учитывая сложный характер системы и возможность образования кристаллических фаз ЛВ в микросферах, можно предполагать, что лимитирующей стадией высвобождения является не растворение кристаллов ЛВ, а диффузия РХ из полимерных гидрогелей различного состава. Таким образом, на основании кинетических исследований выявлен механизм процесса высвобождения модельного ЛВ из гидрогелевых П/З микросфер путем изменения соотношения биополимеров и степени их заполнения ЛВ, что позволяет регулировать скорость диффузии и необхо-

димо при создании матричных пролонгированных систем для контролируемого высвобождения ЛВ.

ЛИТЕРАТУРА

1. W. Landgraf, Li N-Hong, J. R. Benson, *Drug Del. Technol.*, **3**(1), 1 – 12 (2003).
2. M. Grassi, and G. Grassi, *Matrix Syst. Cur. Drug Del.*, **2**(1), 97 – 116 (2005).
3. C. C. Lin, A. T. Metters, *Adv. Drug Del. Rev.*, **58**, 1379 – 1408 (2006).
4. З. К. Мухидинов, Г. Ф. Касимова, Д. Т. Бобокалонов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **44**(10), 35 – 39 (2010).
5. A. M. Lowman, N. A. Peppas, in: *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*, E. Mathiowitz (ed.), Wiley, New York (1999), v. 1, pp. 397.
6. V. Pillay, M. P. Danckwerts, Z. K. Muhyidinov and Reza Fassihi, *Drug Devel., Industrial Pharmacy*, **31**, 191 – 207 (2005).
7. N. A. Peppas, et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **48**, 137 – 138 (2001).
8. P. L. Ritger, N. A. Peppas, *J. Control. Rel.*, **5**, 23 – 36 (1987).
9. G. F. Kasimova, Z. K. Muhidinov, A. Sh. Shtanchaev, et al., *Int. Conference Nanostructures in polysaccharides*, Tashkent, Uzbekistan (2008), pp. 61 – 63.

Поступила 12.08.10

KINETICS OF PIROXICAM RELEASE FROM LOW-METHYLATED PECTI/ZEIN HYDROGEL MICROSPHERES

D. T. Bobokalonov¹, G. F. Kasymova¹, Z. K. Mukhidinov¹,
A. S. Dzhonmurodov¹, D. Kh. Khalikov¹, and L.-S. Liu²

¹ Nikitin Institute of Chemistry, Tajik Academy of Sciences, Dushanbe, Tajikistan Republic;

² Eastern Regional Research Center, U. S. Department of Agriculture, Philadelphia, United States

The kinetics of model drug (piroxicam) release from pectin/zein hydrogel microspheres has been studied under condition simulating the gastrointestinal tract. It is established that the rate-limiting stage in the release mechanism is the drug out-diffusion from microspheres rather than its dissolution. The results demonstrate effectiveness of using this system based on hydrogel microspheres as sustained drug delivery system capable of prolonging drug release for a period of up to 36 h with allowance for diffusion and enzymatic biodegradation in hydrogel.

Key words: Pectin; zein; microspheres; drug delivery system, release kinetics, piroxicam