

Р. И. Мустафин<sup>1</sup>, Т. В. Кабанова<sup>1</sup>, И. И. Сёмина<sup>1</sup>, А. В. Буховец<sup>1</sup>,  
В. Р. Гарипова<sup>1</sup>, Е. В. Шиловская<sup>1</sup>, Ш. Ф. Насибуллин<sup>1</sup>,  
А. Ю. Ситенков<sup>1</sup>, Р. Р. Казакова<sup>1</sup>, В. А. Кеменова<sup>2</sup>

## БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОЛИКОМПЛЕКСНОЙ МАТРИЧНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ В ТОЛСТЫЙ ОТДЕЛ КИШЕЧНИКА НА ОСНОВЕ CARBOMER 940/EUDRAGIT® EPO

<sup>1</sup> Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия;

<sup>2</sup> ГНУ ВИЛАР, Москва, Россия

С целью поиска потенциальных носителей для пероральных систем доставки проведено биофармацевтическое исследование нового носителя на основе интерполиэлектролитного комплекса (ИПЭК) между Carbomer 940 и Eudragit® EPO в составе поликомплексной матричной системы (ПМС). Профили высвобождения диклофенака натрия из разработанной ПМС и препарата “Вольтарен® ретард” в моделирующих желудочно-кишечный тракт средах относятся к “кишечному” и “замедленному” типу соответственно. При оценке фармакокинетических параметров ПМС обнаружена тесная корреляционная зависимость в экспериментах *in vitro/in vivo*. Разработанная ПМС в отличие от оригинального препарата, обеспечивает направленную доставку ЛВ в толстый отдел кишечника и не уступает “Вольтарену® ретард” по биодоступности и основным фармакокинетическим параметрам.

**Ключевые слова:** интерполиэлектролитный комплекс, Carbomer 940, Eudragit® EPO, поликомплексная матричная система (ПМС), “Вольтарен® ретард”, корреляция *in vitro/in vivo*.

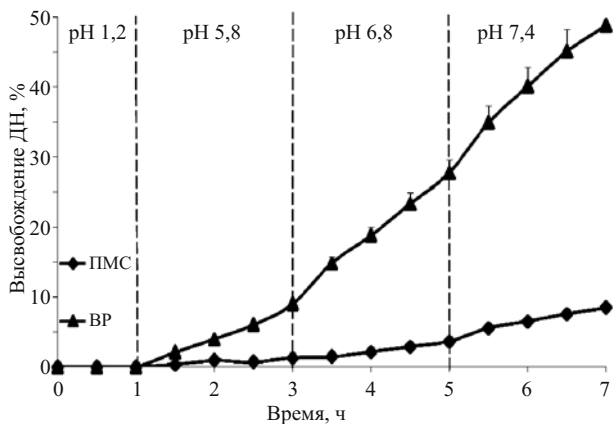
В настоящее время существует множество стратегических подходов для доставки лекарственных веществ (ЛВ) к различным отделам желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), среди которых наиболее значимым является область толстого кишечника (colon) [1 – 3].

В идеале пероральная система, созданная для целенаправленной доставки в толстый отдел кишечника, должна обеспечивать не только высвобождение ЛВ при значении pH > 7 (pH-зависимая, фармацевтическая составляющая), но гарантировать полноту его выхода к определённом моменту времени (время-зависимая, хроно-фармакологическая составляющая) [2]. При этом время задержки (lag-time) в высвобождении ЛВ должно составлять  $3 \pm 1$  ч, что соответствует временному интервалу прохождения системы доставки через тонкий кишечник и обеспечивает направленный выход ЛВ в толстом отделе кишечника. Иначе говоря, конструкция системы должна быть комбинированной и включать как pH-чувствительные, так и матрицеобразующие вспомогательные вещества. В результате высвобождение ЛВ регулируется либо постепенно происходящими в матрице эрозионными процессами, приводящими к вымыванию ЛВ, либо контролируется набуханием включённых в состав системы полимеров, обеспечивая транспорт диффузионного типа [3].

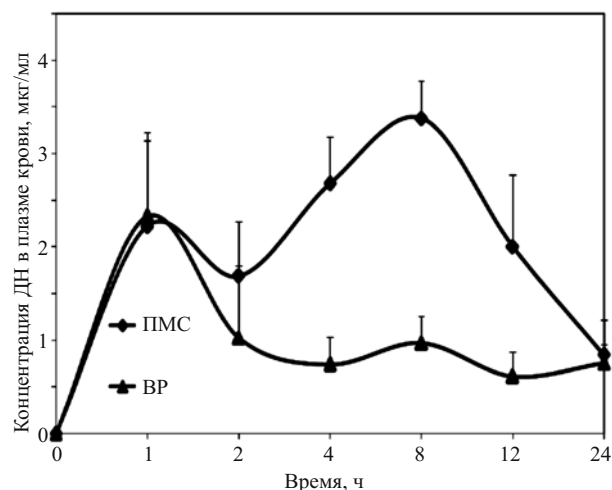
Очевидно, что достигнуть желаемого можно комбинированием pH-чувствительных, pH-независимых и гелеобразующих сополимеров, как природного, так и синтетического происхождения. К числу наиболее часто используемых для этой цели относятся сополимеры (мет)акрилового ряда, выпускаемые под торговыми марками Eudragit® и Carbopol® (Carbomer) [4].

В ранее опубликованных нами работах описаны физико-химические свойства и диффузионно-транспортные характеристики нового носителя на основе интерполиэлектролитного комплекса (ИПЭК), полученного между редкосшитой полиакриловой кислотой (ПАК), выпускаемой под маркой Carbomer 940, и терполимером на основе диметиламиноэтилметакрилата (ДМАЭМА) катионного характера и нейтральных эфиров метакриловой кислоты (Eudragit® EPO) [5 – 10]. Изученные свойства ИПЭК Carbomer 940/Eudragit® EPO позволили рекомендовать его для дальнейших биофармацевтических исследований с целью изучения возможности использования его в качестве перспективного полимерного носителя ЛВ, оптимальной зоной всасывания которого являются различные отделы кишечника. Как известно, заключение о перспективности разрабатываемой системы может быть сделано только после фармакокинетического исследования в экспериментах на животных в сравнении с оригинальным лекарственным препаратом (ЛП), принятым в качестве стандарта при испытаниях на биоэквивалентность [11 – 13].

Целью данной работы явилась сравнительная оценка фармакокинетических параметров диклофенака натрия (ДН) в составе изучаемой поликомплексной матричной системы (ПМС) для доставки в толстый отдел кишечника и оригинального таблетированного препарата “Вольтарен® ретард” с установлением корреляционных зависимостей между высвобождением *in vitro* и всасыванием *in vivo*.



**Рис. 1.** Профили высвобождения диклофенака натрия из поликомплексной матричной системы (ПМС) и таблеток “Вольтарен® ретард” (ВР) в условиях, имитирующих продвижение по ЖКТ.



**Рис. 2.** Фармакокинетические профили диклофенака натрия в плазме крови кроликов после введения поликомплексной матричной системы (ПМС) и таблеток “Вольтарен® ретард” (ВР).

### Экспериментальная часть

В работе использовали Eudragit® марки EPO (EPO) “Evonik Röhm GmbH” (Германия) со средней молекулярной массой 150000 и Carbomer 940 (C940) “Federa” (Бельгия) со средней молекулярной массой 1500000. При приготовлении растворов полиэлектролитов исходили из молекулярной массы мономерного звена сополимера. В составе разработанной ПМС в качестве модельного ЛВ с оптимальной зоной всасывания в толстом кишечнике использовали ДН “Sigma” (Бельгия) [14, 15]. Референтным ЛП, содержащим ДН, явился “Вольтарен® ретард” (ВР) производства компании “Novartis” (Швейцария).

Синтез и очистку ИПЭК, а также получение полимерных матриц проводили по методикам, описанным ранее [5, 8 – 10].

Изучение кинетики высвобождения проводили в условиях, моделирующих продвижение по ЖКТ, по методике [15]: первый час в 0,1 М растворе HCl (pH 1,2), соответствующей среде желудочного сока, а далее каждые последующие 2 ч в фосфатных буферах с постепенно повышающимися значениями pH (5,8, 6,8 и 7,4), имитирующих различные отделы кишечника, начиная с двенадцатиперстной (pH > 5,5) и тощей (pH

6 – 7) кишок, до толстой (pH 7) и подвздошной (pH 7,5). Оценку высвобождения ЛВ проводили методом “вращающейся корзинки” на приборе “Erweka DT626” (Германия) при скорости вращения 100 об/мин в объеме 900 мл. Концентрацию ДН в отбираемых через каждые 30 мин пробах в течение 7 ч определяли УФ-спектрофотометрически при длине волны 276 нм на приборе “Perkin Elmer” Lambda 25 (США). Отбираемый в количестве 3 мл объем восполнялся чистым буферным раствором.

Для оценки фармакокинетических параметров *in vivo* использовали методику [16], согласно которой 8 кроликам-самцам породы шиншилла со средней массой  $2,70 \pm 0,5$  кг после ночного 12-часового голодания натошак давали таблетку (ПМС или ВР), после чего осуществляли забор крови с интервалом 1, 2, 4, 8, 12 и 24 ч. Полученную кровь центрифугировали, к сыворотке добавляли 0,1 М HCl и хлороформ, вновь центрифугировали, после чего отделяли хлороформ и к нему добавляли 0,1 М NaOH, снова центрифугировали и щелочной рэкстракт использовали для определения концентрации ДН методом ВЭЖХ. Измерения проводили на хроматографе “Perkin Elmer 200 series” с УФ-детектором. В работе использовались спирт этиловый ректифицированный, уксусная кислота и фосфорная кислота фармакопейной степени чистоты. Анализ проводился с подвижной фазой — 96 % спирт, 0,15 М водный раствор однозамещенного фосфата натрия, уксусная кислота в соотношении 55:40:5. Хроматографическое разделение проводили при комнатной температуре ( $25 \pm 2$  °C) на аналитической колонке с привитой фазой C18 размером  $4,6 \times 250$  мм (зернение сорбента 10 мкм), в качестве детектора использовали встроенный УФ-спектрофотометр “Perkin Elmer 200 series”, при длине волны 280 нм. Объемная скорость элюирования составляла 0,8 мл/мин, время появления хроматографического пика составляло 7 – 8 мин. Концентрацию ДН рассчитывали по методу абсолютной калибровки. Основные фармакокинетические показате-

### Основные фармакокинетические параметры поликомплексной матричной системы в сравнении с Вольтареном® ретард

Фармакокинетический параметр	ПМС	Вольтарен® ретард
$C_{max}$ , мкг/мл	3,378	2,327
$t_{max}$ , ч	8	1
$AUC_{0-7}$ , мкг · ч/мл	47,47	19,392
$AUC_{0-\infty}$ , мкг · ч/мл	57,402	39,207
$AUMC_{0-7}$ , мкг · ч/мл	462, 432	212,566
$AUMC_{0-\infty}$ , мкг · ч/мл	820,391	1128,55
$MRT$ , ч	14,292	34,21
$C_{max}/AUC_{0-\infty}$ коэффициент абсорбции	0,059	0,059

тели рассчитывались в программе по прикладной фармакокинетике Thermo Kinetica® (Version 5.0, Build 5.00.11; Thermo Fisher Scientific, США). Полученные экспериментальные данные были статистически обработаны; достоверность различий параметров относительной биодоступности оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA).

### Результаты и их обсуждение

Профили высвобождения из 2 сравниваемых систем в условиях, имитирующих продвижение по ЖКТ, представлены на рис. 1. Кинетика высвобождения ДН в случае таблеток “Вольгарен® ретард” существенно отличается от анализируемой ПМС, демонстрируя постоянное и монотонное повышение концентрации ЛВ по мере роста значений рН сред растворения вплоть до окончания эксперимента. Согласно известной классификации профилей модифицированного высвобождения (9 типов), представленной на сайте компании Colorcon® [17], такой профиль характеризуется понятием “замедленный” (delayed/sustained) и используется при создании систем с пролонгированным высвобождением (lag-time ≈ 1 ч). В то же время профиль из ПМС с более отсроченным высвобождением в течение  $3 \pm 1$  ч позиционируется как “кишечный” (intestinal) тип. Таким образом, выявленные различия в профилях высвобождения ДН из ПМС и “Вольгарена® ретард” *in vitro* позволяют предположить и различное поведение обеих систем при тестировании их в экспериментах на животных *in vivo*. Кроме того, полученные данные интересны при определении корреляционной связи *in vitro/in vivo* между высвобождением *in vitro* и всасыванием *in vivo*.

На рис. 2 представлены фармакокинетические кривые зависимости концентрации ДН в плазме крови кроликов в зависимости от времени. Как видно, полученные результаты коррелируют с представленными выше исследованиями по высвобождению ДН из сравниваемых систем в условиях, имитирующих продвижение по ЖКТ.

Интересно отметить, что уровни концентраций ДН в обеих системах к 1 ч сопоставимы, и для референтного ЛП (ВР) являются временем достижения максимальной концентрации. Однако последующее достоверное снижение ( $p < 0,05$ ) концентрации ДН к 8 ч не соответствуют критерию системы с доставкой в область толстого кишечника. Полученные значения весьма сопоставимы со значениями степени выхода ЛВ в экспериментах *in vitro* — максимальные концентрации и время их наступления имеют схожий принцип. Профиль ПМС характеризуется значительно большей площадью под фармакокинетической кривой (AUC), причем максимальная концентрация в крови наблюдается через 8 ч, что обеспечивает бимодальное (бифазное) высвобождение — выход второй, большей дозы ДН из системы непосредственно в толстый отдел кишечника и предполагает создание желаемой хронофармакологической системы с постепенным нараста-

нием концентрации ЛВ в крови через определенный интервал времени от начала приема. Важно, что обе системы обеспечивают начальную концентрацию ДН, гарантируя одновременное наступление терапевтического эффекта.

Очевидно, что на сравниваемые системы, демонстрирующие различные профили высвобождения и всасывания ДН, оказывают влияние как используемые вспомогательные вещества, так и особенности конструкций, приводящих к получению сопоставимых ЛФ. Поскольку перед нами изначально не стояла цель получения системы, аналогичной Вольгарену® ретард, то результат, достигнутый в процессе биофармацевтической оценки разработанной ПМС, показался нам весьма интересным.

Для полноты полученной картины нами проведён подсчёт основных фармакокинетических параметров сравниваемых систем модельно-независимым методом, результаты представлены в таблице. Кинетику препарата в крови кроликов интерпретировали в рамках одночастевой модели с непараметрическим всасыванием. Полученные результаты свидетельствуют о том, что всасывание ДН в кровь происходит с разной скоростью после приема его в виде ПМС и препарата “Вольгарен® ретард”.

По причине замедленного высвобождения обоих препаратов — Вольгарена® и ПМС — фазы всасывания и элиминации происходили параллельно, поэтому анализ периода полувыведения из плазмы и определение  $AUC_{0-\infty}$  не проводился.

Известно, что количественно биодоступность оценивают для 1 дозы по максимальному уровню концентрации ЛВ в плазме крови ( $C_{max}$ ), времени наступления максимума концентрации ( $t_{max}$ ) и площади под кривой зависимости “концентрация ЛВ — время” (AUC) [18]. В этой связи сравнение 2 пероральных систем проводили, рассчитывая относительную биодоступность (Frel):

$$F_{rel} = \{(AUC_{peros}(ПМС))/AUC_{peros}(ВР) \times (C_{peros}(ВР)/C_{peros}(ПМС))\} 100 \% = 168,63 \%$$

Исследование сравнительной фармакокинетики разрабатываемой ПМС с известным препаратом “Вольгарен® ретард” показало, что фармакокинетические параметры препаратов близки, а величина относительной биодоступности ДН после введения ПМС по отношению к препарату сравнения составляет более 150 %.

С помощью метода наименьших квадратов был рассчитан коэффициент корреляции для ПМС относительно референтного препарата “Вольгарен® ретард” ( $R^2 = 0,9607$ ). Полученный показатель свидетельствует о тесной корреляционной связи между степенью высвобождения ДН в опытах *in vitro*, несмотря на характер профиля выхода ЛВ из ПМС, и степенью его всасывания *in vivo*.

Таким образом, сравнительная биофармацевтическая оценка между “Вольгареном® ретард” и поликомплексной матричной системой показала, что разрабо-

танная конструкция пероральной системы доставки не уступает Вольтарену® ретард по основным фармакокинетическим параметрам ( $AUC_{0-t}$ ,  $C_{max}$ ), характеризуется высоким показателем относительной биодоступности ( $F_{rel}$ ) и обеспечивает требуемую, локализованную в толстый отдел кишечника, доставку, что подтверждает перспективность синтезированного нами нового полимерного носителя на основе ИПЭК Carbomer 940/Eudragit® EPO.

Данная работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009 – 2013 годы” (Государственный контракт № 02.740.11.0775).

## ЛИТЕРАТУРА

1. A. W. Basit, *Drugs*, **65**(14), 1991 – 2007 (2005).
2. D. R. Friend, *Adv. Drug Del. Rev.*, **57**(2), 247 – 265 (2005).
3. G. Van den Mooter, *Expert Opin. Drug Deliv.*, **3**(1), 111 – 125 (2006).
4. M. Dittgen, M. Durrani, and K. Lehmann, *STP Pharma. Sci.*, **7**, 403 – 437 (1997).
5. E. R. Zdanova, T. V. Kabanova, G. G. Chisameeva, R. I. Moustafine, *Proc. 5<sup>th</sup> World Meeting on Pharm. Biopharm. & Pharm. Technol.*, Geneva (2006), Abstr. 19.
6. T. V. Kabanova, E. R. Zdanova, R. I. Moustafine, *Proc. 8<sup>th</sup> Int. Sym. on Pharm. Sci.*, Ankara (2006), pp. 364.
7. T. V. Kabanova, E. R. Zdanova, R. I. Moustafine, *Proc. 9<sup>th</sup> Eur. Sym. Control. Drug Del.*, Noordwijk aan Zee (2006), pp. 120 – 122.
8. T. V. Kabanova, E. R. Zdanova, R. I. Moustafine, *J. Control. Release*, **116**(2), e33 – e35 (2006).
9. Р. И. Мустафин, Т. В. Кабанова, Е. Р. Жданова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **44**(3), 38 – 41 (2010).
10. Р. И. Мустафин, Т. В. Кабанова, Е. Р. Жданова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **44**(5), 39 – 41 (2010).
11. N. Fotaki, A. Aivaliotis, J. Butler, and J. Dressman, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **73**, 115 – 120 (2009).
12. G. A. Abdelbary and M. I. Tadros, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **69**, 1019 – 1028 (2008).
13. Д. А. Чиждова, Н. Д. Бунятыян, Г. Ф. Василенко, *Фармация*, № 2, 50 – 52 (2008).
14. C. H. Gleiter, K. H. Antonin, P. Bieck, et al., *Gastrointest. Endosc.*, **31**, 71 – 73 (1985).
15. M. L. Lorenzo-Lamoza, C. Remuñán-Lopez, J. L. Vila-Jato, and M. J. Alonso, *J. Control. Rel.*, **52**, 109 – 118 (1998).
16. Патент РФ № 2070034 (1996); *РЖ Химия*, 70 234П (1998).
17. [www.colorcon.com/formulation/app/tailoring-release-profiles](http://www.colorcon.com/formulation/app/tailoring-release-profiles)
18. S. Klein, M. W. Rudolph, B. Skalsky, et al., *J. Control. Release*, **130**, 216 – 219 (2008).

Поступила 16.09.10

## BIOPHARMACEUTICAL ASSESSMENT OF POLYCOMPLEX MATRIX SYSTEM BASED ON EUDRAGIT EPO AND CARBOMER 940 FOR COLON-SPECIFIC DRUG DELIVERY

R. I. Mustafin<sup>1\*</sup>, T. V. Kabanova<sup>1</sup>, I. I. Semina<sup>1</sup>, A. V. Bukhovets<sup>1</sup>, V. R. Garipova<sup>1</sup>, E. V. Shilovskaya<sup>1</sup>, Sh. F. Nasibullin<sup>1</sup>, A. Y. Sitenkov<sup>1</sup>, R. R. Kazakova<sup>1</sup>, and V. A. Kemenova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kazan State Medical University, Kazan, Tatarstan, Russia;

<sup>2</sup> Scientific Center for Biomedical Technologies, State Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia;

\* e-mail: mustaf@rambler.ru

Biopharmaceutical properties of new drug carrier based on interpolyelectrolyte complex (IPEC) between Carbomer 940 and Eudragit EPO have been studied in the form of a polycomplex matrix system (PMS) intended for to be a potential carrier for peroral drug delivery systems. Release profiles of diclofenac sodium from the proposed PMS with voltaren retard in model gastrointestinal tract medium refer to the intestine-soluble and sustained-release types. Evaluation of the pharmacokinetic parameters of the PMS revealed close *in vitro/in vivo* correlation. The proposed PMS, in contrast to the parent drug, provides targeted drug delivery to the colon region and is not inferior to voltaren retard with respect to the bioavailability and the main pharmacokinetic parameters.

**Key words:** interpolyelectrolyte complex, Carbomer 940, Eudragit EPO, polycomplex matrix system (PMS), voltaren retard, *in vitro/in vivo* correlation