

Научные подходы к разработке комбинированной лекарственной формы на основе биотехнологической субстанции

Р. А. АБРАМОВИЧ¹, В. А. БЫКОВ, И. А. ЕЛАГИНА², Н. А. ПАПАЗОВА², А. Н. ВОРОБЬЕВ¹

¹ Центр коллективного пользования (научно-образовательный центр) Российского университета дружбы народов, Москва

² Кафедра фармацевтической технологии факультета повышения квалификации медицинских работников Российского университета дружбы народов, Москва

Scientific Approaches to Development of Medicinal Formulation Based on Biotechnological Substance

R. A. ABRAMOVICH, V. A. BYKOV, I. A. ELAGINA, N. A. PAPAZONA, A. N. VOROBIEV

Russian University of People's Friendship, Moscow

В проведённом исследовании показана возможность создания композиции, содержащей рекомбинантный человеческий альфа-2 интерферон и экстракт алоэ сухой в форме суппозитория. Определены технологические подходы к разработке предложенного лекарственного средства. Доказано отсутствие взаимодействия между активными и вспомогательными компонентами методом спектроскопии ЯМР ¹H твёрдого тела. Проведено исследование специфической активности полученного лекарственного средства.

Ключевые слова: рекомбинантный человеческий альфа-2 интерферон, экстракт алоэ сухой, суппозитории, ЯМР-спектроскопия.

The study demonstrated possible design of a medicinal formulation in the form of suppositories comprising human recombinant interferon- $\alpha 2$ and dry aloe extract. The approaches to the development of the suppositories were technology — derived. No interaction between the active and auxiliary components was proved by solid state ¹H-NMR spectroscopy. The specific activity of the drug was investigated.

Key words: human recombinant interferon- $\alpha 2$, aloe extract, suppositories, ¹H-NMR spectroscopy.

Иммунобиологические препараты становятся всё более востребованными в противомикробной и противовирусной терапии. Применение комплексной терапии, включающей также растительный компонент, стимулирующий собственный иммунитет человека, является перспективным [1, 2]. Препараты, содержащие интерферон альфа-2b, в форме суппозитория получили широкое применение в медицинской практике благодаря удобству такого способа применения, а также безопасности и эффективности [3, 4].

Цель настоящего исследования — создание комбинированного лекарственного средства на основе интерферона альфа-2b человеческого рекомбинантного и алоэ экстракта сухого. Интерферон альфа-2b успешно используется в противовирусной терапии, а экстракт алоэ воздействует на иммунную систему человека, активи-

руя макрофаги, вызывает высвобождение интерферонов и интерлейкинов. В качестве вспомогательного вещества, способного усилить фармакологический эффект использовали тизоль — аквакомплекс титана глицеросольвата. При разработке лекарственных препаратов на основе тизоля показана возможность сочетания его с лекарственными веществами разной химической природы с получением устойчивых при хранении лекарственных форм, а также со способностью тизоля оказывать иммуностимулирующее действие [5].

Материал и методы

Фракционный состав субстанции алоэ экстракта сухого определяли при помощи аналитической просеивающей машины с набором сит Retsch AS 200. Микроскопические исследования проводились на электронном растровом микроскопе Jeol «JSM-6490LV».

Для регистрации спектров ЯМР ¹H твёрдого тела использовали ЯМР-спектрометр VARIAN 500 MHz.

Определение специфической активности проводили согласно методам контроля иммуномодуляторов по нормативным документам: МУК 4.1/1.2588-96 «Методы контроля ме-

© Коллектив авторов, 2012

Адрес для корреспонденции:

Таблица 1. Фракционный состав субстанции алоэ экстракта сухого

Размер частиц, мкм	Содержание, %
> 250	26,15
125—250	27,27
< 125	43,89

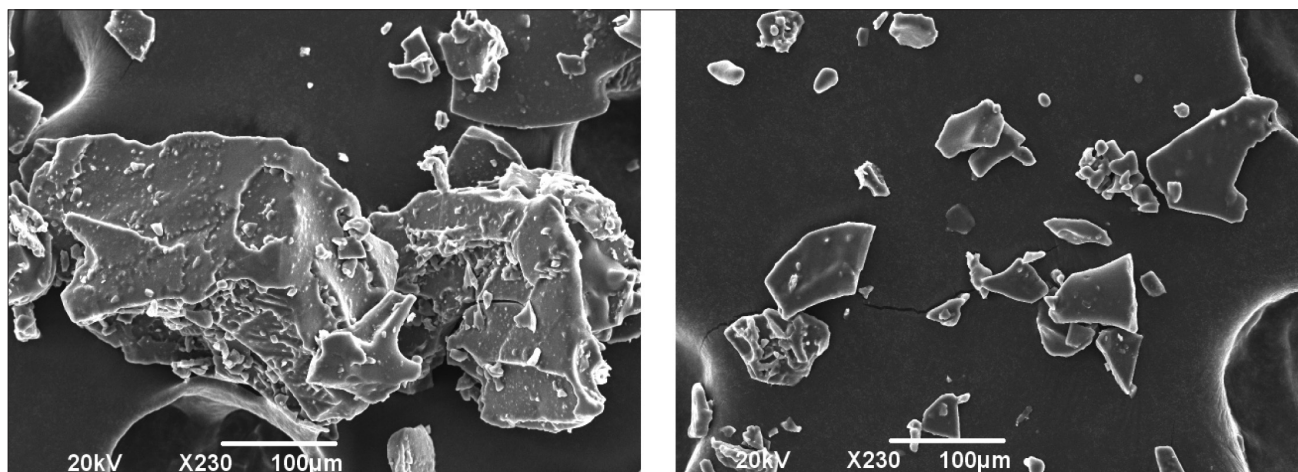


Рис. 1. Сравнительные размеры частиц.

а — порошок субстанции алоэ экстракта сухого до измельчения; *б* — порошок субстанции алоэ экстракта сухого после измельчения.

дицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям» и ФС 42-3874-99.

Результаты и обсуждение

Важным этапом при создании любой лекарственной формы является рассмотрение фармацевтических факторов, способных в конечном счёте, оказать влияние на биодоступность и эффективность препарата. Поэтому способ введения субстанции и выбор суппозиторной основы представляют важный этап разработки лекарственного средства. Субстанции возможно вводить в основу по типу суспензии или в виде раствора. Интерферон альфа-2b возможно вводить только в виде раствора, из-за высокой активности субстанции. Введение экстракта алоэ сухого предпочтительнее по типу суспензии, в связи тем что лекарственное растительное сырьё является средой для размножения микроорганизмов.

При введении активных субстанций в суппозитории по типу суспензии важным фармацевтическим фактором является размер вводимых частиц, так как биодоступность лекарственного средства зависит от седиментации взвешенных частиц при взаимодействии между расплавленной липофильной основой свечей и гидрофильной слизистой прямой кишки. Частицы препарата, хорошо растворимого в воде, могут проникнуть через этот слой гораздо быстрее, если они имеют большой размер от 125 до 250 мкм. Если частицы слишком велики (более 250 мкм) то это приведёт к технологическим проблемам — к не соблюдению

однородности дозирования. В то же время мелкие частицы не могут проникнуть через поверхность и будут оставаться в расплавленной массе свечи. Кроме того, мелкие частицы в высоких концентрациях могут привести к нежелательным явлениям в связи с увеличением вязкости расплавленной массы [6].

Использованная при разработке субстанция алоэ экстракта сухого имела достаточно большой процент крупной фракции (> 250 мкм) и требовала измельчения (табл. 1).

На рис. 1 представлены сравнительные размеры частиц субстанций до и после измельчения и просеивания.

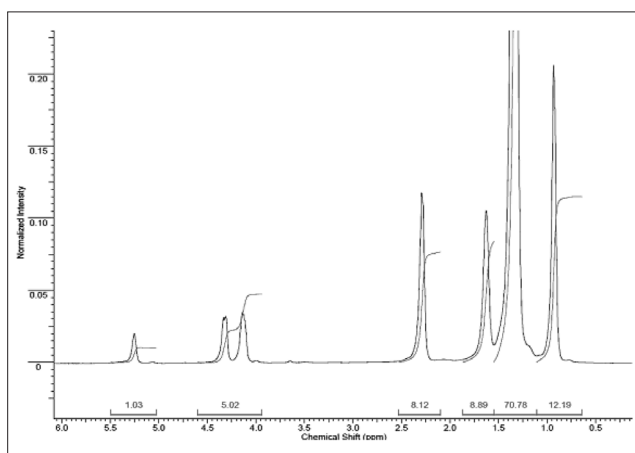
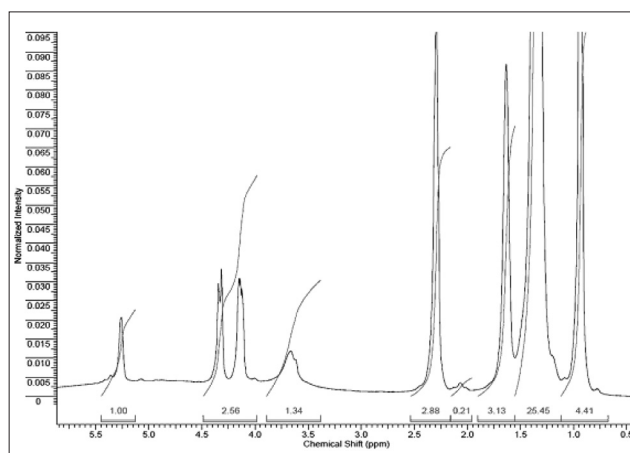
Для суппозиторий, имеющих сложный комбинированный состав, необходимо подобрать подходящую основу, позволяющую сохранить стабильность всех компонентов в процессе хранения.

При подборе основы были использованы твердый жир (hard fat), Витепсол Н 15, S 51, S 55, S 58. В табл. 2 представлены характеристики марок твердого жира, использованных в настоящем исследовании при разработке суппозиторий комбинированного состава.

Применение основы Витепсол Н 15 и твердый жир производства Lodders Crokiaan (Голландия) показало схожие результаты. При их использовании для получения суппозиторий комплексного состава необходимо дополнительное введение эмульгатора. Основы Витепсол S 51 и S 55, S58, содержащие эмульгатор в качестве дополнитель-

Таблица 2. Марки основ, использованных при разработке суппозитория

Основа	Состав
Твердый жир (Loders Croklaan, Голландия) (ТУ 9369-001-28910991-10, Ph.Eur., USP/NF)	Гидрогенизированные пальмоядровые глицериды
Витепсол Н 15 (произв. Sasol, Германия, Ph.Eur., USP/NF)	Гидрогенизированные пальмоядровые глицериды + Гидрогенизированные пальмоядровые глицериды + цетеарет-25 + глицерилрицеинолеат
Витепсол S 51 (произв. Sasol, Германия, Ph.Eur., USP/NF)	Гидрогенизированные пальмоядровые глицериды + цетеарет-25 + пчелиный воск
Витепсол S 55 (произв. Sasol, Германия, Ph.Eur., USP/NF)	Гидрогенизированные пальмоядровые глицериды + цетеарет-25 + глицерилрицеинолеат
Витепсол S 58 (произв. Sasol, Германия, Ph.Eur., USP/NF)	Гидрогенизированные пальмоядровые глицериды + цетеарет-25 + глицерилрицеинолеат

Рис. 2. Спектр ЯМР ^1H твердого жира (Loders Croklaan, Голландия).Рис. 3. Спектр ЯМР ^1H суппозитория комбинированного состава.

ного компонента, образуют однородную массу и равномерные суппозитории, однако данные основы являются достаточно дорогостоящими.

Наиболее приемлемой основой по технологии и по ценовым показателям является твердый жир марки «Hard fat» (Loders Croklaan, Голландия), который имеет температуру плавления 34–37,5°C. Это позволяет вводить термолабильные компоненты в широком диапазоне температур от 34–39°C, что значительно снижает риски денатурации.

Отсутствие взаимодействия активных компонентов с указанной основой и между собой было доказано методом спектроскопии ЯМР ^1H твердого тела. Для проведения исследования были приготовлены суппозитории массой 1,5 г на основе твердого жира (произв. Loders Croklaan, Голландия) с добавлением лецитина как эмульгатора. Полученный спектр ЯМР ^1H суппозитория комбинированного состава сравнивали со спектром твердого жира марки «Hard fat» (Loders Croklaan, Голландия). Результаты представлены на рис. 2, 3.

Отличие спектра ЯМР ^1H твердого жира от спектра суппозитория состоит в наличии в последнем дополнительных сигналов в области 2,1 и 3,5–3,9 м. д. Первый из них обусловлен компонентами вспомогательных веществ (экстракт алоэ, α -токоферол, тизоль, лецитин). Более ин-

тенсивный сигнал, близкий по площади сигналу метинового протона триглицерида, обусловлен протонами метинных и метиленовых групп фрагментов ОСН и лецитина. Сигналы, соответствующие ОН-группам, распределены в области от 3,2 до 5,7 м. д. и имеют площадь в 2–3 раза большую, чем сигнал вышеупомянутого метинового протона триглицерида. Таким образом, учитывая неизменность химических сдвигов протонов триглицеридов, спектры ЯМР ^1H исследуемых суппозитория могут быть интерпретированы как суперпозиция протонных спектров отдельных компонентов.

Наблюдаемое отсутствие смещений сигналов протонов компонентов в спектрах суппозитория можно считать доказательством отсутствия взаимодействия между всеми активными и вспомогательными компонентами готовой лекарственной формы.

Суппозитории комбинированного состава были проверены на противовирусную активность в сравнении с суппозиториями, содержащими в качестве активных субстанции только интерферон альфа 2b.

Результаты определения противовирусной активности приведены в табл. 3.

Результаты определения противовирусной активности суппозитория комбинированного

Таблица 3. Противовирусная активность препаратов в одном суппозитории

Состав, г	Активность
Интерферон альфа-2b, вода, натрия хлорид, натрия гидрофосфата додекагидрат, натрия дигидрофосфата дигидрат, лецитин, твердый жир (произв. Loders Croklaan, Голландия) до массы суппозитория 1,5 г	606 000
Интерферон альфа-2b, вода, натрия хлорид, натрия гидрофосфата додекагидрат, натрия дигидрофосфата дигидрат, алоэ экстракт сухой, тизоль, лецитин, α -токоферол, твердый жир (произв. Loders Croklaan, Голландия) до массы суппозитория 1,5 г	849 333

состава, содержащие интерферон альфа-2b, экстракт алоэ сухой, тизоль, лецитин и α -токоферол показали, что противовирусная активность образца разработанных суппозиториях почти на 40% превышает противовирусную активность образца, содержащего только интерферон альфа-2b.

Заключение

В проведенном исследовании показана возможность создания композиции, содержащей рекомбинантный человеческий альфа-2b интерферон и экстракт алоэ сухой в форме суппозиториях. Определены технологические подходы к разработ-

ке предложенного лекарственного средства. Доказано отсутствие взаимодействия между активными и вспомогательными компонентами методом спектроскопии ЯМР ^1H твердого тела. Проведено сравнительное исследование специфической активности полученного лекарственного средства и показано увеличение противовирусной активности разработанного состава.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП РУДН при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках госконтракта № 16.552.12.7002. по мероприятию 5.2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Перчаткин С. В. Эффективность эраконда и экстракта алоэ в повышении иммунного статуса животных: дис. канд. вет. наук: 16.00.04. Троицк, 2002; 148.
2. Завьялова И. Т. Разработка технологии таблеток, содержащих экстракты алоэ древовидного. Дисс. канд. фармацевт. наук: 15.00.01. СПб., 1993; 47.
3. Каграманова Ж. А., Малиновская В. В., Парфенов В. В. Терапия рецидивирующей герпес-вирусной инфекции у женщин препаратом «Виферон-3». Росс журн кож вен забол (Приложение «Герпес») 2008; 1: 44–46.
4. Еришов Ф. И., Смирнова Т. Д., Оспельникова Т. П., Кудряшов И. П. Интерфероны и другие цитокины при хроническом пиелонефрите. Вест Росс Акад мед наук. 2010; 9: 18–23.
5. Смагина Т. А., Бекетов Б. Н. Перспективы использования в медицине аквакомплекса глицеросольвата титана и препаратов на его основе. Бюллетень сибирской медицины Приложение 2, Тюмень, 2006; 131–132.
6. Muller, B. W. Suppositories, pharmakologic, biopharmazie and galen rectal and vaginal anzuwendender Arzneiformen Wissenschaftl. Verlag, Stuttgart, Germany. 1986; 371.