

ИЗУЧЕНИЕ БИОДОСТУПНОСТИ ГЕЛЕЙ ФЕКСОФЕНАДИНА В ОПЫТАХ INVITRO

Хаджиева З.Д.¹, Чумакова В.А.², Губанова Л.Б.¹

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт, 357532, Ставропольский край, г. Пятигорск-32, пр. Калинина, 11, zara-farm@mail.ru

²Бюджетное учреждение Воронежской области «Воронежский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств», 394051, г. Воронеж, ул. Писателя Маршака, д. 1, v.chumakova@yandex.ru

Изучено высвобождение фексофенадина из пяти модельных образцов гелей методом равновесного диализа через полупроницаемую мембрану в опытах invitro. Важным показателем качества гелей является способность обеспечивать биологическую доступность лекарственного вещества. Варьируя различными сочетаниями вспомогательных веществ, можно регулировать силу и продолжительность терапевтического действия геля, регулировать биодоступность действующих веществ. В качестве носителей для разработываемой мягкой лекарственной формы фексофенадина изучены гелевые основы, широко применяемые в производстве. Сравнительная оценка степени высвобождения лекарственного вещества из данных основ показала, что оптимальными для дальнейшего изучения являются основа карбопола с глицерином (образец 2) и сплав полиэтиленоксидов с молекулярными массами 1500:400 в соотношении 1:5 (образец 3). Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения фексофенадина в диализате. Метрологическая оценка методики проведена по критериям правильности, воспроизводимости и линейности, и показано, что она может быть использована в лабораторных условиях при изучении высвобождения фексофенадина.

Ключевые слова: фексофенадин, высвобождение, гели, спектрофотометрия, валидация.

THE STUDY OF THE BIOAVAILABILITY GELS OF FEXOFENADINE IN EXPERIMENTS IN VITRO

Khadzhieva Z.D.¹, Chumakova V.A.², Gubanova L.B.¹

¹Pyatigorsk medical-pharmaceutical Institute, 357532, Stavropol territory, Pyatigorsk-32, prospect Kalinina 11, zara-farm@mail.ru

²Budgetary institution of the Voronezh region «The Voronezh center of quality control and certification of medicines», 394051, Voronezh, St. Writer Marshak D. 1, v.chumakova@yandex.ru

Studied the release of Fexofenadine model samples from five gels, the method of equilibrium dialysis using a semipermeable membrane in vitro. An important indicator of the quality of the gels is the ability to provide bioavailability of the drug substance. By varying different combinations of excipients that can adjust the strength and duration of therapeutic action of the gel, to regulate the bioavailability of active ingredients. As carriers to develop a soft dosage forms Fexofenadine gel studied the basics, widely used in production. Comparative evaluation of the degree of drug release from data bases showed that the optimum for further study are the basis of HPMC with glycerol (sample 2) and an alloy of polyethylene oxides with molecular weights of 1500 to 400 in the ratio of 1:5 (sample 3). Developed spectrophotometric method for the quantitative determination of Fexofenadine in dialysis. Metrological evaluation of the methodology carried out according to the criteria of accuracy, reproducibility and linearity, and it is shown that it can be used in the laboratory when studying release of Fexofenadine.

Keywords: fexofenadine, release, gels, spektrofotometriya, validatsiya.

Наиболее эффективными лекарственными препаратами для лечения аллергических заболеваний кожи являются антигистаминные препараты, что определяется ведущей ролью гистамина в патогенезе большинства симптомов аллергии. На сегодняшний день на фармацевтическом рынке представлено множество высокоэффективных антигистаминных препаратов разных поколений. Из антигистаминных препаратов последнего поколения наиболее широко известен фексофенадин – активный метаболит терфенадина. Замена

метильного радикала в терфенадине на карбоксильную группу устраняет воздействие на калиевые каналы, что делает его более безопасным по сравнению с терфенадином (препаратом 2-го поколения). Фексадин-антагонист Н-1 гистаминовых рецепторов не обладает седативной активностью, так как фексофенадин не проникает через гематоэнцефалический барьер [3].

Современный фармацевтический рынок нуждается в появлении высокоэффективных наружных лекарственных форм, обеспечивающих наиболее быстрое проникновение лекарственного вещества в очаг поражения при местном применении.

Гели как лекарственная форма — мягкая форма вязкой консистенции, способная сохранять форму и обладающая упругостью и пластичностью. По сравнению с мазями гели являются крайне перспективной лекарственной формой, т.к. имеют рН близкий к рН кожи, быстро изготавливаются, не закупоривают поры кожи, быстро и равномерно распределяются, в гели можно ввести гидрофильные лекарственные вещества, можно изготовить суспензионные гели.

Имеется большой ассортимент гелевых основ и их компонентов с разнообразными свойствами. Использование разного вида основ даёт возможность улучшить качество и повысить эффективность геля как лекарственной формы [5].

Важным показателем качества гелей является способность обеспечивать биологическую доступность лекарственного вещества. Варьируя различные сочетания вспомогательных веществ, можно регулировать силу и продолжительность терапевтического действия геля, регулировать биодоступность действующих веществ. Для этого должны быть оценены способность лекарственного вещества к высвобождению из геля, его резорбция через кожу.

О данной способности геля можно судить по результатам исследования его диффузии. Для этого могут быть пригодны модельные опыты, проводимые *in vitro*. Их можно разделить на две группы: диффузия при прямом контакте геля со средой и диффузия через мембрану. Наиболее распространены методы последней группы.

Сущностью этой группы методов исследования мазей к высвобождению активного ингредиента заключается в том, что между мазью и средой, в которую выделяется лекарственное вещество, помещают полупроницаемую мембрану [2].

Целью настоящей работы явилось изучение степени высвобождения фексофенадина из геля в зависимости от природы вспомогательных веществ.

Для объективного контроля скорости высвобождения спектрофотометрическую методику количественного определения фексофенадина необходимо было адаптировать к

определению вещества в диализате и провести её валидацию по показателям линейность, правильность и воспроизводимость.

Материалы и методы

В исследованиях использовали субстанцию фексофенадина, соответствующую требованиям НД 42-13016-04, с содержанием активного вещества 99,2 % [4].

В качестве носителей для разрабатываемой мягкой лекарственной формы фексофенадина изучены гелевые основы, широко применяемые в производстве гелей, описанные в литературе и не вызывающие аллергических и сенсibiliзирующих проявлений после нанесения. Составы образцов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Составы исследуемых образцов геля фексофенадина

Ингредиенты	Образцы гелей				
	1	2	3	4	5
Фексофенадин	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Натрия гидроксид 5% р-р	8,4	8,4		-	
Карбопол 940	1,0	1,0		1,0	
Глицерин		20,0			
ПГ	5,0			20,0	5,0
ПЭО-400	5,0		80,0		5,0
ПЭО - 1500			20,0		
Триэтаноламин				5,0	
Спирт 95%				10,0	
Хитозан гель					до 100,0
Вода очищенная	до 100,0				

Изучение высвобождения фексофенадина из разработанных образцов оценивали методом равновесного диализа по Кривчинскому.

Методика: прибор, используемый для диализа, состоит из стеклянной трубки длиной 15см, сечением 20мм², на один конец которой крепится нелакированная целлофановая плёнка марки «Купрофан» толщиной 45 мкм, и термостатируемого сосуда вместимостью 250 мл.

На внутреннюю поверхность мембраны равномерным слоем наносили навеску исследуемого образца геля 2,00 г (точная навеска), которую затем неподвижно закрепляли на конце диализной трубки. Диализную трубку вносили в химический стакан с диализной средой и погружали на глубину не более 3 мм. Диализной средой служил 5 % раствор натрия гидроксида, объём которого составлял 50 мл. Прибор помещали в термостат, в котором

поддерживали температуру 36,5° С. Пробы диализата (по 1мл) отбирали через 15,30,45,60, 75, 90, 105, 120,135, 150, 165, 180 минут и через 3,5;4; 4,5; 5; 6;8;12 и 24 часа и доводили диализной средой до 10 мл. Объёмы отобранных для анализа проб восполняли адекватными объёмами диализной среды. Длительность эксперимента по изучению высвобождения фексофенадина составила 24 часа. Опыт проводили с 5-ти кратным повторением на трёх навесках геля одного образца. Параллельно проводили контрольный опыт диализа с гелем-плацебо.

Результаты исследования и их обсуждение

Для получения достоверных результатов спектрофотометрическая методика количественного определения фексофенадина в диализате для образца № 2, показавшего наилучшие результаты в эксперименте, была подвергнута валидационной оценке в соответствии с ОФС 42-0113-09 «Валидация аналитических методик» [1].

Линейность методики характеризует возможность получения аналитических величин, в нашем случае это значение оптической плотности, пропорциональных количеству определяемого вещества. Для проведения эксперимента были изготовлены гели фексофенадина с концентрацией 0,25 %, 0,5 %, 0,75 %, 1 %, 1,25 %. Полученные гели были подвергнуты диализу по описанной выше методике, а диализаты после 4 часов – проанализированы. График линейной зависимости представлен на рисунке 1.

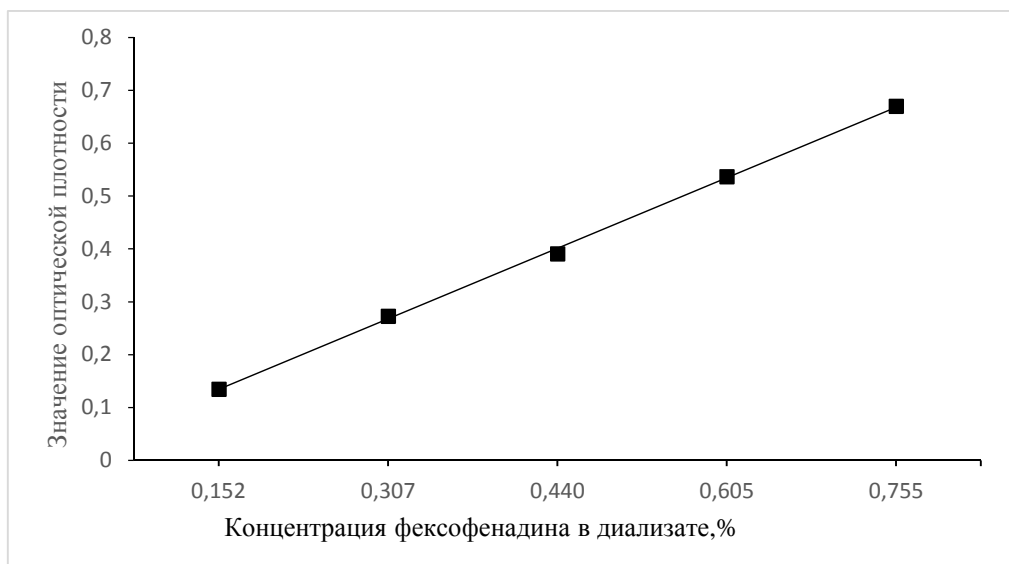


Рис. 1. График зависимости оптической плотности от концентрации фексофенадина в диализате

Как следует из представленного рисунка, почти все экспериментальные точки лежат на линии тренда. Для выяснения того, насколько прочна эта зависимость, вычислен коэффициент корреляции, который равен 0,999. Поскольку рассчитанное нами значение коэффициента корреляции максимально приближено к 1, то это позволяет утверждать о

наличии жесткой линейной зависимости оптической плотности от концентрации фексофенадина в диализате.

Уравнение линейной зависимости имеет вид:

$$y = 0,880 \times x + 0,005$$

Воспроизводимость аналитической методики определяет степень близости между известным значением и значением определяемой величины, полученным по данной методике. Для целей фармацевтического анализа обычно достаточно определения лабораторной воспроизводимости [6]. Для этого анализу подвергали диализаты шести параллельно проведенных диализов геляфексофенадина 1 % (в течение 4 часов). Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты тестирования методики по критерию воспроизводимости

№ п. п.	Значение оптической плотности, А	Количество фексофенадина в диализате, %	Метрологические характеристики
1	0,537	0,605	$\bar{X}=0,602$ $SD=0,01087$ $RSD=1,81\%$
2	0,527	0,593	
3	0,531	0,598	
4	0,547	0,616	
5	0,549	0,618	
6	0,529	0,596	
7	0,525	0,591	

Как видно из представленных результатов, величина относительного стандартного отклонения составила 1,81 %, что подтверждает получение достоверных результатов.

Определение правильности методики проводили на модельной прописи, за которую был принят диализат геля с 1,25 % содержанием фексофенадина после 4 часового диализа. Содержание фексофенадина в нем составило 0,755 %.

Из этого диализата готовили разведения 1:2, 1:1, 1:0,5 и рассчитывали содержание фексофенадина. Затем диализат разбавляли раствором 5 % натрия гидроксида в соответствии с указанными разведениями, измеряли оптическую плотность и рассчитывали фактическое содержание фексофенадина. Результаты оценки правильности методики определения фексофенадина в диализате приведены в таблице 3.

Таблица 3

Оценка методики определения фексофенадина в диализате по показателю правильности (исходное содержание 0,755 %)

№ п/п	Разведение модельного препарата	Расчётное содержание фексофенадина в препарате, %	Найденное количество фексофенадина (с учётом разведения), %	Открываемость R, %	Метрологические характеристики
1	1:2	0,252	0,245	97,22	$\bar{R} = 99,57$ $SD = 2,04$ $RSD = 2,05\%$
2	1:2	0,252	0,247	98,02	
3	1:2	0,252	0,256	101,59	
4	1:1	0,378	0,371	98,15	
5	1:1	0,378	0,372	98,41	
6	1:1	0,378	0,369	97,62	
7	1:0,5	0,503	0,51	101,39	
8	1:0,5	0,503	0,513	101,99	
9	1:0,5	0,503	0,512	101,79	

Таким образом, предложенная методика спектрофотометрического определения фексофенадина в диализате является воспроизводимой, правильной, имеет линейный характер в области аналитических концентраций и может применяться в лабораторных условиях для изучения биодоступности фексофенадина. Данная методика была использована для определения скорости высвобождения фексофенадина из гелей на различных основах.

Количественное определение выделившегося лекарственного вещества в пробах диализата осуществляли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Shimadzu UV – 1800 (Япония), при длине волны 228 нм в кювете с толщиной 10 мм. Для этого пробы диализата в количестве 1 мл помещали в мерные колбы вместимостью 10 мл и доводили объем колбы до метки раствором, используемым в качестве диализной среды.

В качестве раствора сравнения использовали диализат из геля- плацебо.

Расчёты высвобождения лекарственного вещества из образцов проводились с использованием РСО фексофенадина.

Количество высвободившегося и содержащегося в диализате (С%) фексофенадина рассчитывали по формуле:

$$C\% = \frac{A_x \times V \times W_x \times 0,004}{A_{PCO} \times V_a \times a_x},$$

где A_x – оптическая плотность раствора диализата;

A_{PCO} – оптическая плотность раствора РСО;

W_x – разведение, мл;

V – общий объём диализата, мл;

V_a – объём диализата, взятый для анализа;

a_x – количество фексофенадина в навеске геля, г;

0,004 – навеска РСО, г.

На основании данных измерения концентрации фексофенадина, перешедшего в диализат на протяжении времени наблюдения строили кривые высвобождения, представленные на рисунке 2.

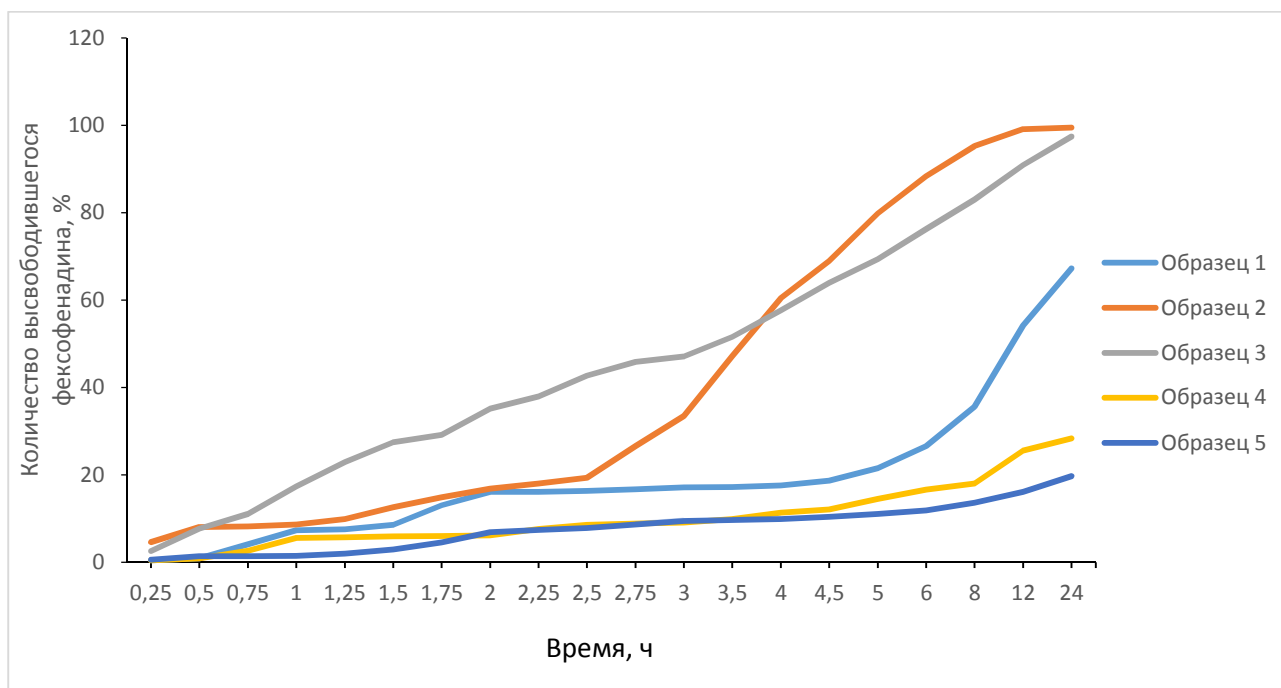


Рис.2. Кинетический профиль высвобождения фексофенадина из гелей

Как следует из рисунка 2, гелиевые основы карбопола с глицерином (образец 2) и полиэтиленоксидная основа (образец 3) обеспечивают полное и пролонгированное высвобождение фексофенадина на протяжении 24 часов. Это указывает на то, что данные основы являются оптимальными для введения фексофенадина и представляют собой интерес для дальнейшего изучения в условиях *in vitro*.

Заключение. Биодоступность мази изучена в опытах *in vitro* с использованием спектрофотометрической методики, для которой нами проведена валидационная оценка и показано, что данная методика может быть использована для получения достоверных результатов при анализе диализатов для изучения высвобождения фексофенадина из гелей.

Список литературы

1. Валидация аналитических методик. – ОФС 42-0113-09, 2009. – 12с.

2. Губанов О.Д., Вергейчик Е.Н., Губанова Л. Б. Изучение биодоступности кетопрофена в мазях на гидрофильной основе / О. Д. Губанов, Е. Н. Вергейчик, Л. Б. Губанова // Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация. – 2009. – № 2. – С.161-164.
3. Кодинцева В.А., Хаджиева З.Д., Дзюба В.Ф. Анализ лекарственных препаратов противоаллергического действия / В.А. Кодинцева, З.Д. Хаджиева, В.Ф. Дзюба // Всероссийский Съезд фармацевтических работников: сборник материалов. – М., 2014. – С.128-130.
4. Фексофенадина гидрохлорид. – НД 42-13016-04. – 16с.
5. Хаджиева З.Д., Губанова Л.Б., Теунова Е.А. Разработка методик качественного и количественного анализа фенолоальдегидов в мази хлорофиллипта / З.Д. Хаджиева, Л.Б. Губанова, Е.А. Теунова // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2 (электронный журнал).
6. Хаджиева З.Д., Губанова Л.Б., Крахмалев И.С.. Разработка методик качественного и количественного анализа спрея на основе густых экстрактов эвкалипта прутовидного и солодки голой / З.Д. Хаджиева, Л.Б. Губанова, И.С. Крахмалев // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 5(2). – С. 431-435.

Рецензенты:

Лазарян Д.С., д.фарм.н., профессор, зав.каф. фармацевтической и токсикологической химии ПМФИ, филиала ВолгГМУ, г.Волгоград;

Шевченко А.М., д.фарм.н., профессор кафедры технологии лекарств ПМФИ, филиала ВолгГМУ, г. Волгоград.