

ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И АНАЛИЗА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ДЕРМАТОЛОГИЧЕСКОЙ МАЗИ

Никитина Н.В.¹, Хаджиева З.Д.¹, Степанюк С.Н.¹, Зацепина Е.Е.¹, Темирбулатова А.М.¹, Лежнева Л.П.¹, Никитина А.С.¹

¹Пятигорский медико- фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации», Пятигорск, Россия, e-mail: n_niki7@mail.ru

Разработана липосомальная противовоспалительная дерматологическая мазь, содержащая липосомальный левомецетин и препарат Тамбуканской лечебной грязи. Проведена оценка качества разработанной мази по таким показателям как: органолептические свойства мази, отсутствие механических включений, степень однородности, намазываемость, прилипающая способность, подлинность, количественное содержание левомецетина и каротиноидов, осмотическая активность, реологические свойства мази - пластическая вязкость, напряжение сдвига. Результаты исследования реологических показателей липосомальной мази, свидетельствуют о том, что изучаемая мазь обладает тиксотропными свойствами и высокой стабильностью. Проведены биофармацевтические исследования противовоспалительной липосомальной дерматологической мази методом диализа через полупроницаемую мембрану. Определена оптимальная мазевая основа – полиэтиленоксидная основа. Результаты оценки показателей качества дерматологической мази соответствуют основным требованиям нормативной документации к лекарственной форме «мази».

Ключевые слова: липосомы, мазь, левомецетин, препарат Тамбуканской лечебной грязи, показатели качества мази.

THE DESIGN AND ANALYSIS OF LIPOSOMAL ANTI-INFLAMMATORY DERMATOLOGIC OINTMENT

Nikitina N.B.¹, Khadzhiyeva Z.D.¹, Stepanuk S.N.¹, Zacepina E.E.¹, Temirbulatova A.M.¹, Lezhneva L.P.¹, Nikitina A.C.¹

¹Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute branch of the SGEI HPT VolgSMU of Minzdrav of Russia, Pyatigorsk, Russia, e-mail: n_niki7@mail.ru

Developed anti-inflammatory dermatologic ointment containing liposomal chloramphenicol and Tambukansky curative mud. Assess the quality of developed ointments on such indicators as: organoleptic properties of the ointment, the absence of inclusions, the degree of homogeneity, spreadability, adhesive ability, authenticity and quantitative content of chloramphenicol and carotenoids, osmotic activity, rheological properties of ointments and plastic viscosity, shear stress. The results of the study of rheological indicators of liposomal ointment, indicate that the studied ointment has thixotropic properties and high stability. Conducted biopharmaceutical researches ointment by dialysis through a semi-permeable membrane. The dynamics of the release of carotenoids contained in the preparation Tambukansky curative mud and chloramphenicol ointments of different composition bases. The optimal ointment base. – poliatilenaksid basis. The results of the research of the quality of dermatological ointments correspond to the main requirements of regulatory documents to the dosage form "ointment".

Keywords: liposomal, ointment, chloramphenicol, Tambukansky curative mud, indicators of the quality of the ointment.

В настоящее время наблюдается активная разработка и усовершенствование методов создания липосом, многочисленные предложения использования липосом в качестве транспортеров лекарственных препаратов с целью дальнейшего продвижения в различных сферах медицины. При использовании липосомальных форм лекарственных препаратов, иммобилизованных во внутренний объем или мембрану липидных везикул, удается преодолеть недостатки их интактных форм.

Возможность применения липосом в терапии различных заболеваний обусловлено совокупностью их биологических свойств: биосовместимостью, биodeградируемостью, практически отсутствием токсических и антигенных свойств, химической инертностью, способностью липидных везикул предохранять заключенные в них вещества от действия ряда факторов, обеспечивая пролонгированный эффект фиксированных в них лекарственных препаратов [1, 5].

Многолетний опыт применения таких лекарственных форм как мази показывает, что они способны оказывать как местное, рефлекторное, так и общее воздействие на организм. В настоящее время их используют в качестве лечебных и профилактических средств, в различных областях медицины: в дерматологии, стоматологии, хирургии, офтальмологии, ревматологии и др. [2, 3].

Повышается актуальность использования в составе мазей различных биологически активных компонентов, фитокомпозиций, обладающих выраженным противовоспалительным, ранозаживляющим, противомикробным эффектом [6, 7].

Теоретическое и экспериментальное обоснование технологии липосомальных лекарственных форм для наружного применения представляет собой проблему, решение которой должно внести вклад в расширение ассортимента отечественной фармацевтической продукции.

Целью исследований являлось изучение показателей качества разработанной нами ранее липосомальной противовоспалительной дерматологической мази, содержащей липосомальный левомицетин и препарат Тамбуканской лечебной грязи [4].

Материалы и методы исследования

В работе использовали методы: биофармацевтический - метод равновесного диализа через полупроницаемую мембрану, методы определения структурно - механических показателей мази, метод определения осмотической активности мази.

Анализ показателей качества разработанной липосомальной мази оценивали согласно требованиям Государственной фармакопеи XII издания.

Были проанализированы следующие показатели разработанной мази: органолептические свойства мази, отсутствие механических включений, степень однородности, намазываемость, прилипающая способность, подлинность, количественное содержание левомицетина и каротиноидов, осмотическая активность, реологические свойства мази - пластическая вязкость, напряжение сдвига.

Для идентификации левомицетина и каротиноидов использовали химические и физико-химические методы определения. Из физико-химических методов для идентификации каротиноидов использовали ТСХ, спектрофотометрический метод.

Для количественного определения в мази левомицетина и каротиноидов использовали спектрофотометрический метод.

Результаты исследования и их обсуждение

При определении органолептических свойств показано, что мазь с липосомальным левомицетином и препаратом Тамбуканской лечебной грязи оранжевого цвета со слабым специфическим запахом. Механические включения отсутствуют.

Определяя степень однородности, от каждой из исследуемых мазей (7 серий) брали по 4 пробы (0,02-0,03 г), помещали на предметное стекло, накрывали вторым предметным стеклом, плотно прижимали. При рассматривании пятен невооруженным глазом видимых частиц обнаружено не было.

Для установления рН водного извлечения изучаемой мази навески в количестве 2,0г растворяли в 20 мл воды очищенной при нагревании на водяной бане. Полученный раствор охлаждали до комнатной температуры и фильтровали. Значения рН растворов мазей определяли потенциометрически. Полученные значения рН водных извлечений находились в оптимальном интервале для данной лекарственной формы (6,4 - 6,9). Поэтому можно предположить, что мазь не будет вызывать раздражения кожи.

Результаты исследования намазываемости для разработанной мази с липосомальным левомицетином и препаратом Тамбуканской лечебной грязи показали, что диаметр пятна составил $3,2 \pm 0,1$ см, что свидетельствует об удовлетворительной способности мази к намазыванию.

Исследования прилипающей способности показали, что изучаемая мазь обладает хорошей прилипающей способностью (19 из 20 отпечатков).

Для определения подлинности левомицетина в мази были изучены спектры светопоглощения 0,0001% раствора СО левомицетина в спирте этиловом 70% и спиртового раствора мази с левомицетином в диапазоне длин волн от 200 до 320 нм. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре относительно соответствующего растворителя (спирта этилового 70%).

Уф-спектры растворов СО левомицетина и мази с липосомальным левомицетином характеризуются наличием одного максимума в области 277 ± 3 нм и одного минимума при 236 ± 3 нм. Это позволяет рекомендовать данный метод для определения подлинности левомицетина в мази.

Полученные спектры поглощения приведены на рисунке 1.

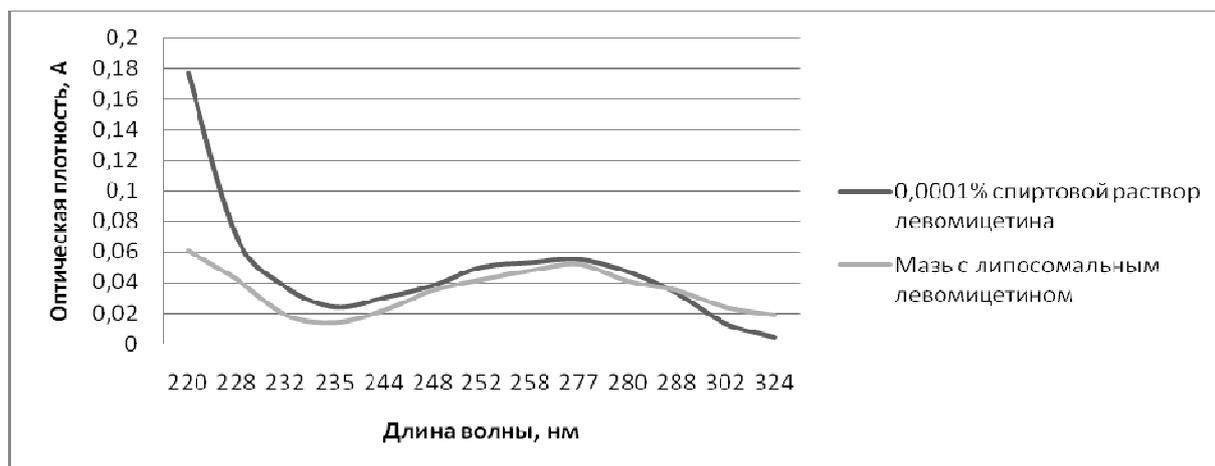


Рис.1. Спектры поглощения спиртовых растворов левомицетина и мази

Изучена возможность спектрофотометрического определения присутствия каротиноидов в исследуемой мази. Для этого были определены спектры поглощения хлороформных извлечений препарата Тамбуканской лечебной грязи и мази. Были получены спектры поглощения в диапазоне длин волны от 300 нм до 600 нм (рисунок 2.).

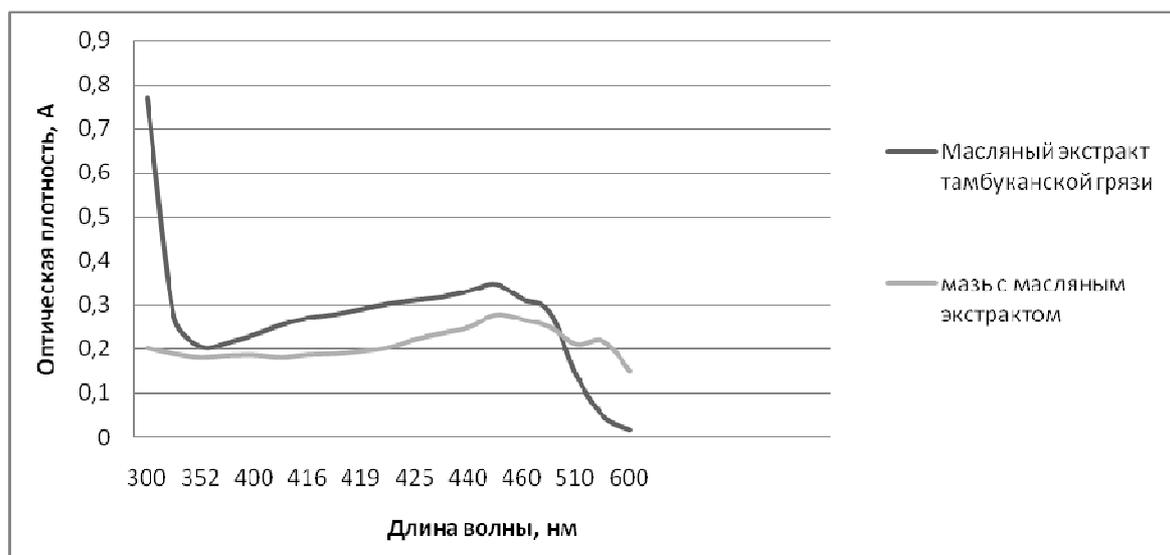


Рис.2. Спектры поглощения хлороформных извлечений препарата Тамбуканской лечебной грязи (масляного экстракта) и мази

Сравнение спектров поглощения препарата Тамбуканской лечебной грязи и мази с препаратом показало наличие одинакового максимума светопоглощения при длине волны равной 452 нм. Согласно литературным данным эта область светопоглощения соответствует каротиноидам, что позволило рекомендовать осуществление идентификации каротиноидов в мази спектрофотометрическим методом.

Биофармацевтические исследования мази проводили методом равновесного диализа по методу Кривчинского через полупроницаемую мембрану. Изучена динамика высвобождения каротиноидов, содержащихся в препарате Тамбуканской лечебной грязи и

левомицетина.из мазей на различных композиционных основах. В качестве акцепторной фазы использовали спирт этиловый 70%. В ходе эксперимента система термостатировалась при температуре $37\pm 2^{\circ}\text{C}$. На поверхность пленки помещали 1,0 г мази. Пробы отбирали в объеме 5 мл через 30, 45 и 60 минут и далее через каждый час, восполняя объем диализной среды до 25 мл (по 5 мл спирта этилового 70%). Количество вытяжки Тамбуканской лечебной грязи вычисляли по содержанию в диализате суммы каротиноидов, которые определяли спектрофотометрическим методом. Количественное определение каротиноидов в мази проводили в хлороформном извлечении в максимуме светопоглощения при 452 нм. Расчет вели по стандартному образцу бихромата калия, который рекомендует ФС в пересчете на β -каротин. Кинетические кривые высвобождения каротиноидов из мазевых композиций представлены на рисунке 3.

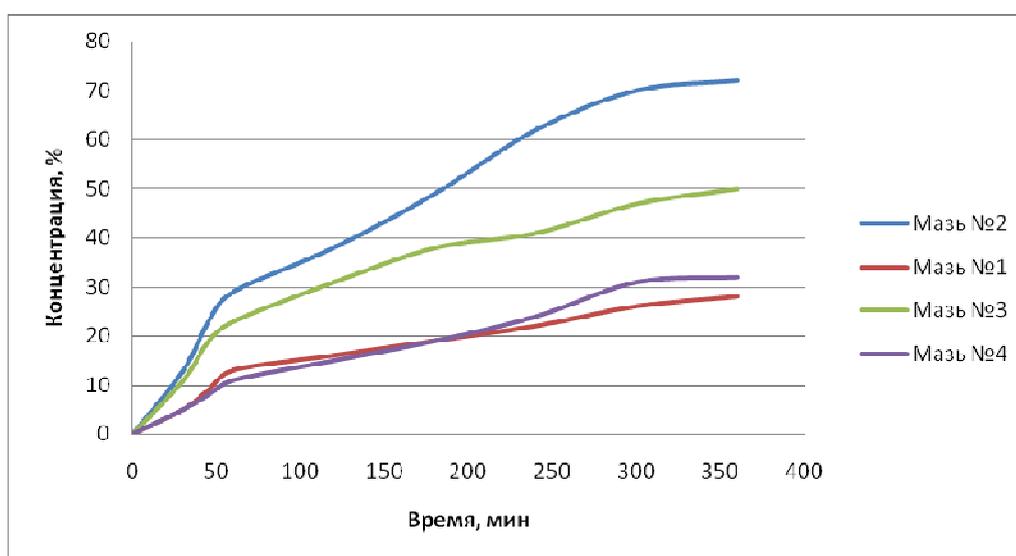


Рис.3. Кинетические кривые высвобождения каротиноидов из мазевых композиций

Наиболее эффективное и полное высвобождение каротиноидов происходило из мази №2 на полиэтиленоксидной основе (комбинация ПЭО-1500 и ПЭО-400).

Количественное определение левомицетина в диализате проводили спектрофотометрическим методом при длине волны 277 нм. Сравнительные результаты влияния природы основы на высвобождение левомицетина из мази показали, что мазевая композиция на полиэтиленоксидной основе является наиболее оптимальной.

Биофармацевтическая оценка динамики высвобождения левомицетина и каротиноидов из мази позволила сделать вывод, что исследуемая лекарственная форма обеспечивает необходимый фармакологический эффект: количество высвободившегося левомицетина за 5 часов приближалось к 86%, а каротиноидов – до 80%.

Результаты фармакологических исследований мази на полиэтиленоксидной основе в опытах *in vivo*, проведенные на животных (крысах) на модели термического ожога в сравнении с препаратом «Левомиколь» подтвердили высокую противоожоговую и ранозаживляющую активность оригинальной мази.

Рассматривая вопрос о применении мази при лечении ожогов и ран, необходимо учитывать такую характеристику, как осмотическая активность, которая во многом определяет специфическую активность мази, особенно на первой фазе раневого процесса. В случае мази на полиэтиленоксидной основе сама мазевая основа выступает как активный компонент мази: способствует отторжению некротических масс, очищает рану, впитывает раневое отделяемое, оказывает потенцирующее действие на лечебный эффект мази в целом.

Методика определения осмотической активности: мази заключались в следующем: в диализатор (полупроницаемая мембрана – целлофан диаметром 65 мм, с величиной пор 0,025мм) помещали 1,0г мази, а в диализаторную камеру помещали воду очищенную. Диализатор термостатировали при 37°C и каждый час проводили взвешивание. Диализ проводили до установления постоянной, неизменяющейся массы исследуемой системы. Исследовано несколько серий мази на различных основах. В качестве контроля использовали 10% раствор натрия хлорида, который широко используется при лечении гнойных ран. По разнице между полученным и предыдущим результатом определяли количество воды поглощенной мазью. На основании полученной в результате эксперимента величине осмотической активности (поглощение жидкости достигало до 405%) можно сделать вывод, что предложенные мазевые композиции на полиэтиленоксидной основе (мазь №3) и основе карбопола (мазь №2) способны качественно очищать раневые поверхности (рисунок 4.).

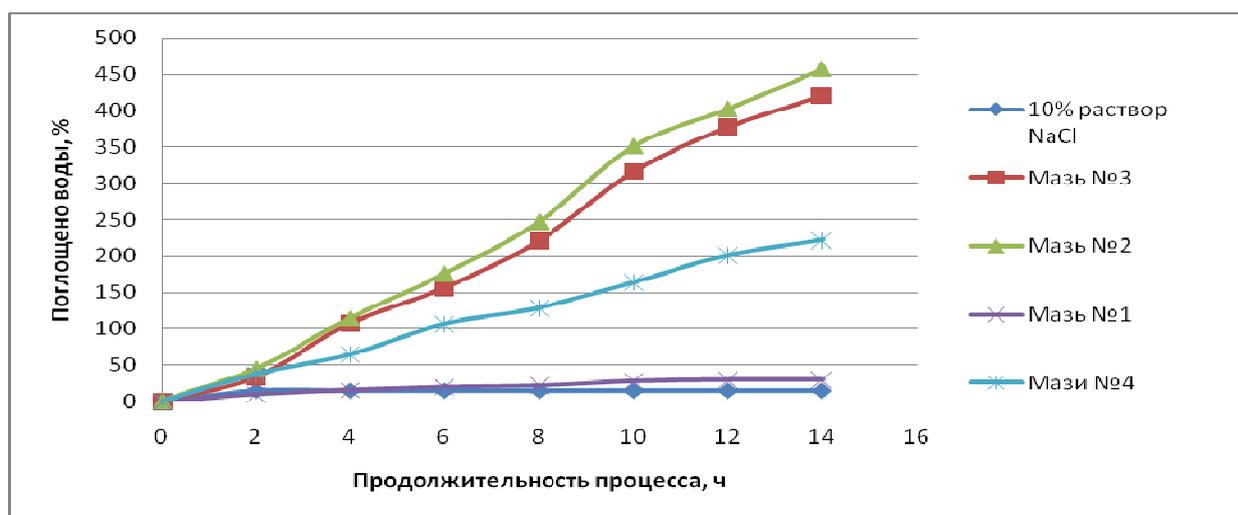


Рис.4. Результаты определение осмотической активности липосомальной мази

Исследование реологических показателей липосомальной мази, таких как: пластическая вязкость, напряжение сдвига проводили с помощью ротационного

вискозиметра РВ-8. Ротационный вискозиметр относится к интегральным приборам с однородным полем напряжения. Он имеет коаксиальные цилиндры, в зазор между которыми помещали исследуемую мазь. На шкив наматывали нити и перекидывали через блочки. Нами была использована стандартная методика проведения эксперимента.

Кинетику структурообразования исследуемых систем изучали в области изменения градиента скорости течения от малых к большим и от больших к малым.

Подобрав минимальный груз (10г), при котором начинается вращение внутреннего цилиндра вискозиметра, постепенно увеличивали нагрузку (на 5г), получив, таким образом, результаты скорости вращения цилиндра. Время оборотов системы прекращало меняться при общей массе грузов более 80г. Затем опыт с использованными ранее массами грузов повторяли, но в обратном порядке. По полученным данным строили кривые зависимости скорости вращения цилиндров от нагрузки и получали «восходящую» кривую, которая в совокупности с «нисходящей» кривой, построенной при снятии нагрузки, образует петлю гистерезиса. Реограмма течения липосомальной мази представлена на рисунке 5.

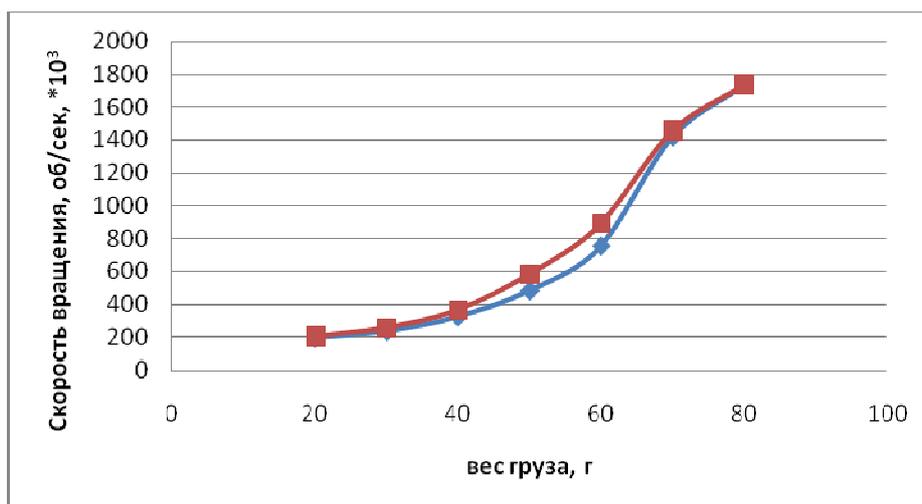


Рис.5 .Реограмма течения липосомальной мази

Кривые, представленные на рисунке, свидетельствуют о том, что изучаемая мазь обладает тиксотропными свойствами. Присутствие восходящих и нисходящих кривых петли гистерезиса говорит о тиксотропных свойствах исследуемых мазей и высокой стабильности системы.

Выводы

1. Проведена оценка показателей качества разработанной противовоспалительной ранозаживляющей дерматологической мази, содержащей липосомальный левомицетин и препарат Тамбуканской лечебной грязи таких как: органолептические свойства, степень однородности, рН, намазываемость, прилипаемость, осмотическая активность,

реологические показатели. Результаты оценки показателей качества дерматологической мази соответствуют основным требованиям НД к лекарственной форме «мази».

2. Биофармацевтическая оценка методом *in vitro* позволила сделать вывод, что исследуемая лекарственная форма обеспечивает необходимый фармакологический эффект.

Список литературы

1. Андреева И.Н. Липосомальные лекарственные препараты: функциональные свойства и преимущества // Новая аптека. – 2004. - №5. –С.58-62.
2. Лежнева Л.П. Исследования по обоснованию концентрации фитокомплексов крапивы двудомной в составе геля // Современные проблемы науки и образования (электронный журн.). - 2014. - № 6.
3. Никитина Н.В. Результаты изучения противоожоговой активности комплекса мазей // Проблемы фармацевтической науки и практики: сб. материалов IV Всерос. науч. - практ. конф. с междунар. уч. - Владикавказ, 2014. - С.230 – 232.
4. Никитина Н.В.Изучение возможности создания дерматологической мази с липосомами левомецетина // Проблемы фармацевтической науки и практики: сб. материалов III Всерос. науч.- практ. конф. с междунар. уч. – Владикавказ, 2013. – С.182 – 183.
5. Степанюк С.Н. Анализ липосомального геля с фамотидином и маслом кедровым / С.Н. Степанюк, Н.В. Никитина // Современные проблемы науки и образования (электронный журн.) - 2013. - № 2.
6. Темирбулатова А.М. Фитохимическое исследование и разработка технологии жидкого экстракта из листьев лимонника китайского / А.М. Темирбулатова, Э.Ф.Степанова, В.А. Садоян и др. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. - 2010. - Т.22, №12. - С.141-144.
7. Фармацевтические аспекты сохранения и укрепления здоровья населения на основе фитотерапии / И.В. Попов, Ю.Г. Рудакова, О.И. Попова и др. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2013. - Т. 15, №3-6. - С.1911-1913.

Рецензенты:

Черников М.В., д.м.н., заведующий кафедрой биологии и физиологии ПМФИ – филиала ВОЛГ ГМУ, г. Пятигорск;

Компанцев Д.В., д.фарм.н., заведующий кафедрой технологии лекарств ПМФИ – филиала ВОЛГ ГМУ, г. Пятигорск.