

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕСТА «РАСТВОРЕНИЕ» ДЛЯ ОЦЕНКИ СКОРОСТИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ГИПОКСЕНА ИЗ ТРАНСДЕРМАЛЬНОГО ПЛАСТЫРЯ

С.О. ЛОСЕНКОВА¹

Э.Ф. СТЕПАНОВА²

¹Смоленская государственная
медицинская академия

²Пятигорская государственная
фармацевтическая академия

e-mail: :losenkova-so@mail.ru

В статье представлены сведения о разработке методики теста «растворение» с целью стандартизации трансдермального пластыря с гипоксеном (поли(дигидроксифенилен)тиосульфатом натрия).

Ключевые слова: тест «Растворение», лопастная мешалка, УФ-спектрофотометрия, трансдермальный пластырь с гипоксеном.

Трансдермальные лекарственные формы относятся к парентеральным лекарственным формам с контролируемой скоростью доставки лекарственных веществ (ЛВ).

В настоящее время разработан проект общей фармакопейной статьи (ОФС) на лекарственную форму «ТТС» для ГФ XII издания. Проект разработан на основании материалов ведущих зарубежных фармакопей: Европейской, Британской, в которых одним из тестов контроля качества ТТС является тест растворения [6, 7], вошедший в проект ОФС «ТТС» для ГФ XII.

Тест «Растворение» для трансдермальных пластырей позволяет прогнозировать скорость высвобождения ЛВ из матрицы чрескожно в системный кровоток и соответственно, время наступления терапевтического эффекта. Поэтому условия проведения испытания должны быть приближены к физиологическим параметрам. Тест «Растворение» является биофармацевтическим методом исследования *in vitro* и его проводят на приборах «Вращающаяся корзинка», «Лопастная мешалка», «Проточная ячейка». Число оборотов вращения лопасти или корзинки, а также скорость потока подбирают экспериментально [1]. Поэтому с целью разработки норм качества для трансдермального пластыря с поли(дигидроксифенилен)тиосульфатом натрия авторами предложена методика теста «Растворение».

Экспериментальная часть. В процессе исследований, касающихся оптимизации компонентов для трансдермального пластыря, сконструированы 4 состава адгезивной матрицы, отличающиеся количественным содержанием гипоксена (поли(дигидроксифенилен)тиосульфата натрия). Адгезивную матрицу получали согласно разработанной технологической схемы. К субстанции поли(дигидроксифенилен)тиосульфата натрия (0,027; 0,054; 0,081; 0,11) прибавляли тёплый 0,5% раствор натрия метабисульфита в пропиленгликоле-1,2, спирт этиловый 95% (консервант), поливинилпирролидон (ПВП К30) среднемолекулярный (Biochemica). Всё тщательно гомогенизировали. Далее подвергали воздействию источника ультразвука (ультразвуковой скальпель УРСК-7н) в течение 30 секунд (22-25 кгц) с целью растворения поли(дигидроксифенилен)тиосульфата натрия и гомогенизации смеси. После растворения поли(дигидроксифенилен)тиосульфата натрия смесь переносили на непроницаемую плёнку-подложку с неметаллизированной стороны площадью 25 см². Высушивали при комнатной температуре 24 часа. Количество поли(дигидроксифенилен)тиосульфата натрия рассчитано с учётом влажности препарата, составляющей 8,43%.

Тест «Растворение» является биофармацевтическим методом исследования *in vitro* и позволяет оценить не только характер высвобождения ЛВ из ЛФ, но и определить зависимость степени высвобождения гипоксена (поли(дигидроксифенилен)тиосульфата натрия) от его количественного содержания в лекарственной форме (ЛФ). Тест «Растворе-



ние» проводили с использованием аппарата мешалочного типа «Лопастная мешалка» или «Лопасть над диском» (тестер растворимости EgwecaDT 700) на основании материалов зарубежных фармакопей [7]. Определение количественного содержания высвобождающегося гипоксена проводили методом УФ-спектрофотометрии.

В качестве материалов использованы липкая лента, фольга пищевая, мембрана «Карбосил». Среда растворения – 0,05% раствор натрия метабисульфита в фосфатном буфере (рН=7,4; объём 600мл), температура $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, скорость вращения лопасти 50 об/мин. Фосфатный буфер или вода очищенная хорошо моделируют кровеносную систему организма. В состав буферного раствора введён натрия метабисульфит для предотвращения разложения гипоксена в водном растворе.

В некоторых литературных источниках указано, что данный тест можно проводить без мембраны (диализной плёнки) в том случае, если адгезивная матрица пластыря и ЛВ липофильны. В нашем исследовании матрица и ЛВ гидрофильны, поэтому необходимо использовать полупроницаемую мембрану (диализную плёнку).

Трансдермальные пластыри площадью 25cm^2 с разным содержанием ЛВ помещали в изготовленные пакеты из диализной полисилоксанкарбонатной плёнки «Карбосил» толщиной 45-50 мкм (площадью 36cm^2) при этом не допускали образование складок. Прибор для реализации теста растворения представлял собой стандартную группу из 8 термостатированных стаканов с лопастными мешалками. Подготовленный образец с мембраной помещали в держатель на первое уплотнительное кольцо, прижимали вторым уплотнительным кольцом, закрепляли гайками. Для контрольного опыта из мембраны «Карбосил» готовили такой же образец пластыря, но без гипоксена, таким же способом закреплённый в держателе. Держатели с образцами прикрепляли липкой лентой к нижней части лопастных мешалок. Помещали в каждые 6 сосудов указанный объём (600мл) предварительно термостатированной (37°C) среды растворения. В 5 круглодонных сосудов опускали мешалки с держателями пластырей, содержащими гипоксен мембраной в фосфатный буфер, а в 6-й мешалку с держателем образца, не содержащим гипоксен. Тест растворения начинали немедленно с указанной скоростью. Лопастные мешалки с держателями вращались в поверхностном слое воды (1-2мм). Из каждого сосуда через отверстие в крышке отбирали пипеткой по 3,0мл пробы раствора через определённые промежутки времени 0,5, 2, 4, 24 часа из центра среды растворения [3, 5].

Удаляемый объём замещали чистым растворителем. 3,0мл диализата помещали в кювету спектрофотометра СФ 2000-02. Анализировали спектрофотометрически в диапазоне волн 200-380нм, измерение проводили в максимуме $305 \pm 3\text{нм}$ при толщине слоя 10мм. В качестве раствора сравнения использовали 0,05% раствор натрия метабисульфита в фосфатном буфере. Фоновое влияние контрольного образца (держатель с пластырем без гипоксена) учитывали при расчёте количественного содержания поли(дигидроксифенилен)тиосульфоната натрия. Параллельно, в тех же условиях измеряли оптическую плотность разведения рабочего стандартного образца (РСО) поли(дигидроксифенилен)тиосульфоната натрия [4].

Выбранные промежутки времени позволяют зарегистрировать начало высвобождения ЛВ из ЛФ, время максимального высвобождения, а также указать на пролонгированный характер высвобождения.

Количество грамм ($M(t_i)$) растворённого поли(дигидроксифенилен)тиосульфоната натрия (i -я проба) в указанные периоды времени (t_i) с 1cm^2 , в $\text{г}/\text{см}^2$ вычисляли по формуле 1:

$$M(t_i, 0,5\text{часа}) = \frac{(At_i - A_k) \cdot 0,1 \cdot 1,0 \cdot 600,0}{A_0 \cdot 100,0 \cdot 50,0} \quad (1)$$

где $M(t_i)$ – количество грамм гипоксена, высвобождающегося за определённый период времени; At_i – оптическая плотность раствора i -й пробы к моменту времени t_i ;



Ак – оптическая плотность раствора контрольного образца; Ао - оптическая плотность раствора РСО гипоксена. При определении М(ти) через 2, 4, 24 часа формула 2 приобретает следующий вид:

$$M(t_i) = \frac{(A_{ti} - A_k) \cdot 0,1 \cdot 100,0}{A_o \cdot 100,0 \cdot 5,0} + X(t_i), \quad (2)$$

где X(ти) – содержание гипоксена в граммах в отобранной пробе (3,0мл), предназначенной для количественного определения через 2, 4, 24 часа.

$$X(t_i) = M(t_i) / 200 \quad (3)$$

Опыты проведены с 6 образцами пластыря каждой серии, отличающейся количественным содержанием поли(дигидроксифенилен)тиосульфата натрия. Фоновое влияние контрольного образца (держатель с пластырем без ЛВ) нулевое. Результаты эксперимента представлены в таблицах 1, 2, 3.

Таблица 1

Количественное содержание поли(дигидроксифенилен)тиосульфата натрия в диализате в разные периоды наблюдения

| Периоды наблюдения | №1 (0,027г) | №2 (0,054г) | №3 (0,081г) | №4 (0,110г) |
|--------------------|---|---|---|---|
| 30 минут | 0,0010 0,0010 0,0009 0,0010 0,0010 0,0009 | 0,0021 0,0017 0,0018 0,0022 0,0025 0,0021 | 0,0015 0,0017 0,0017 0,0017 0,0015 0,0017 | 0,0019 0,0021 0,0026 0,0023 0,0014 0,0024 |
| 2 часа | 0,0039 0,0034 0,0038 0,0031 0,0036 0,0033 | 0,0076 0,0062 0,0051 0,0068 0,0060 0,0072 | 0,0036 0,0037 0,0037 0,0038 0,0038 0,0039 | 0,0051 0,0049 0,0054 0,0049 0,0058 0,0054 |
| 4 часа | 0,0089 0,0090 0,0090 0,0086 0,0087 0,0089 | 0,0165 0,0178 0,0165 0,0175 0,0171 0,0176 | 0,0075 0,0075 0,0082 0,0085 0,0085 0,0078 | 0,0085 0,0085 0,0072 0,0092 0,0087 0,0104 |
| 24 часа | 0,0136 0,0138 0,0143 0,0143 0,0143 0,0143 | 0,0266 0,0281 0,0276 0,0283 0,0281 0,0272 | 0,0219 0,0240 0,0227 0,0241 0,0235 0,0244 | 0,0280 0,0300 0,0290 0,0262 0,0300 0,0310 |

Примечание: №1 – пластырь с содержанием гипоксена 0,027г, №2 – пластырь с содержанием гипоксена 0,054г, №3 – пластырь с содержанием гипоксена 0,081, №4 пластырь с содержанием гипоксена 0,110г.

Таблица 2

Метрологическая характеристика метода

| Периоды наблюдения | №1 | №2 | №3 | №4 |
|--------------------|---|--|---|--|
| 30 минут | $\bar{X} = 0,00095$ $\Delta \bar{X} = 0,057 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 6,05\%$ | $\bar{X} = 0,00207$ $\Delta \bar{X} = 0,302 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 14,56\%$ | $\bar{X} = 0,00163$ $\Delta \bar{X} = 0,108 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 6,63\%$ | $\bar{X} = 0,00212$ $\Delta \bar{X} = 0,452 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 21,32\%$ |
| 2 часа | $\bar{X} = 0,00352$ $\Delta \bar{X} = 0,321 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 9,12\%$ | $\bar{X} = 0,00648$ $\Delta \bar{X} = 0,949 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 14,64\%$ | $\bar{X} = 0,00375$ $\Delta \bar{X} = 0,110 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 2,93\%$ | $\bar{X} = 0,00525$ $\Delta \bar{X} = 0,373 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 7,10\%$ |
| 4 часа | $\bar{X} = 0,00885$ $\Delta \bar{X} = 0,172 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 1,94\%$ | $\bar{X} = 0,01720$ $\Delta \bar{X} = 0,592 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 3,44\%$ | $\bar{X} = 0,00800$ $\Delta \bar{X} = 0,488 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 6,10\%$ | $\bar{X} = 0,00873$ $\Delta \bar{X} = 1,090 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 12,48\%$ |
| 24 часа | $\bar{X} = 0,0141$ $\Delta \bar{X} = 0,332 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 2,35\%$ | $\bar{X} = 0,02770$ $\Delta \bar{X} = 0,686 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 2,48\%$ | $\bar{X} = 0,02340$ $\Delta \bar{X} = 1,006 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 4,30\%$ | $\bar{X} = 0,02892$ $\Delta \bar{X} = 1,860 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = \pm 6,43\%$ |

Далее скорость подачи гипоксена из матриц определяли как тангенс угла наклона стационарного участка прямой.

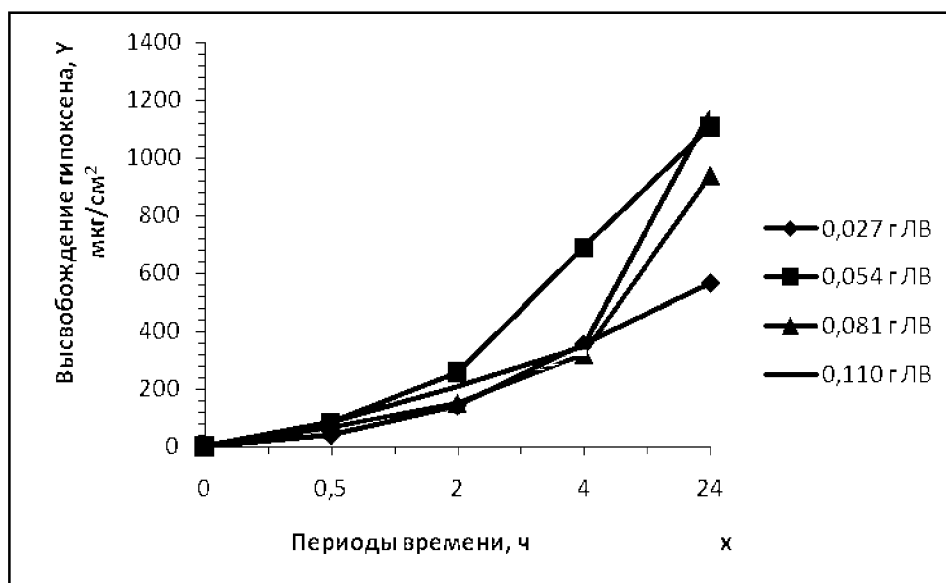


Рис. 1. Типичный профиль высвобождения *in vitro* поли(дигидроксифенилен)тиосульфوناتа натрия из трансдермальных пластырей с различным его содержанием через определённые промежутки времени

Таблица 3

Количество высвободившегося (мкг/см²), степень высвобождения (%) и скорость подачи гипоксена за промежуток времени (мкг/ч·см²) из пластырей с различным содержанием поли(дигидроксифенилен)тиосульфوناتа натрия

| Периоды наблюдения | | Значение показателей через интервалы времени 0,027г ЛВ | Значение показателей через интервалы времени 0,054г ЛВ | Значение показателей через интервалы времени 0,081г ЛВ | Значение показателей через интервалы времени 0,110г ЛВ |
|--------------------|---------------------------|---|---|---|---|
| 0,5 часа | A(мкг/см ²) | 38,00±2,30 | 82,67±12,07 | 65,33±4,34 | 84,87±18,07 |
| | X,% | 3,58±0,200 | 3,83±0,559 | 2,02±0,135 | 1,92±0,406 |
| | V(мкг/ч·см ²) | 76,00±4,60 | 165,33±24,14 | 130,67±8,67 | 169,73±36,13 |
| 2 часа | A | 140,66±12,85 | 259,33±37,96 | 150,00±4,40 | 209,93±14,93 |
| | X,% | 13,02±1,188 | 12,00±1,757 | 4,63±0,135 | 4,77±0,335 |
| | V(0,5-2 часа) | 68,44±8,97 | 117,78±24,30 | 56,44±3,27 | 83,38±18,55 |
| 4 часа | A | 354,00±6,90 | 686,67±23,70 | 320,00±19,51 | 349,20±43,60 |
| | X,% | 32,78±0,638 | 31,79±1,094 | 9,88±0,600 | 7,96±0,993 |
| | V(2-4 часа) | 106,67±6,86 | 213,67±19,66 | 85,00±8,98 | 69,63±23,77 |
| 24 часа | A | 564,00±13,27 | 1106,00±27,43 | 937,33±40,23 | 1156,67±74,40 |
| | X,% | 52,22±1,228 | 51,21±1,271 | 28,93±1,240 | 26,39±1,642 |
| | V(4-24ч) | 10,5±0,82 | 20,97±1,35 | 30,87±2,02 | 40,37±3,82 |

Таким образом, степень и скорость высвобождения поли(дигидроксифенилен)тиосульфوناتа натрия (гипоксена) из пластыря изменяется пропорционально при его содержании не более 0,054 г. Последующее увеличение концентрации ЛВ (до 0,081 г) в пластыре способствовало уменьшению степени высвобождения поли(дигидроксифенилен)тиосульфوناتа натрия в 2-2,5 раза.

Степень высвобождения поли(дигидроксифенилен)тиосульфوناتа натрия из трансдермальных пластырей с содержанием 0,027 г и 0,054 г ЛВ через 30 минут может быть не более 5%, через 2 часа – более 5%, но не более 15%, через 4 часа – до 35%, через 24 часа – более 50%.

Выводы

1. Скорость трансдермальной подачи изменяется пропорционально содержанию гипоксена (поли(дигидроксифенилен)тиосульфوناتа натрия) до 0,054 г ЛВ в пластыре.

2. Разработанная методика теста «Растворение» для трансдермальных пластырей легко воспроизводима, соответствует принятой в зарубежных фармакопеях и может быть использована с целью включения в ФСП на трансдермальный пластырь с гипоксеном.

Список литературы

1. Давыдова, К.С. Тест «Растворение» в контроле качества лекарственных средств / К.С. Давыдова, Ю.И. Кулинич, И.Е. Шохин // Ремедиум. – 2010, №5. – С.42.
2. Мизина, П.Г. Введение лекарственных веществ через кожу – достижения и перспективы (обзор) / П.Г. Мизина, В.А. Быков, Ю.И. Настина [и др.] // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2008, №1. – С.176-183.
3. НД «Транстек 20, 30, 40» № 42-12758-03.
4. ФСП «Гипоксен Поли(дигидроксифенилен)тиосульфонат натрия» № 42-0064345302.
5. ФСП «Нитроперкутен ТТС» № 42-0003-0003-00.
6. Тохмахчи, В.Н. Разработка проекта общей фармакопейной статьи «Трансдермальные терапевтические системы» / В.Н. Тохмахчи, А.Е. Васильев, И.И. Краснюк [и др.] // Фармация. – 2008, №3. – С.3-6.
7. Eur.Pharmacopoeia, 5ded., приложение 8, 2006.

USE OF THE TEST "DISSOLUTION" FOR THE ESTIMATION OF SPEED OF LIBERATION HYPOXEN FROM TRANSDERMAL THE PLASTER

S.O. LOSENKOVA¹

E.F. STEPANOVA²

¹⁾Smolensk State Medical Academy

²⁾Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

e-mail: losenkova-so@mail.ru

In article data on working out of a technique of the test "dissolution" for the purpose of standardization transdermal a plaster with hypoxen are presented.

Key words: the test "Dissolution", mixer withblade, Uf-spektrofotometrija, transdermal a plaster with hypoxen