

УДК 615.454.1: 542.64: 543.42.062

В. В. КОВАЛЬОВ, В. О. ГРУДЬКО, В. І. ЧУЄШОВ

*Національний фармацевтичний університет*

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ТВІНУ-80 НА КІНЕТИКУ ВИВІЛЬНЕННЯ ЕКСТРАКТУ ХЛОРОФІЛІПТУ ГУСТОГО З МАЗІ НА ГІДРОФІЛЬНІЙ ОСНОВІ

*На прикладі твіну-80 експериментально доведено значний вплив поверхнево-активних речовин на кінетику вивільнення екстракту хлорофіліпту густого з мазі на гідрофільній основі, для чого розроблено методику спектрофотометричного визначення його концентрації у розчинах.*

**Ключові слова:** мазь; екстракт хлорофіліпту густий; біодоступність; діаліз; кінетика вивільнення; спектрофотометрія

### ВСТУП

Лікувальний ефект мазей залежить від їх фізико-хімічних та структурно-механічних властивостей, які безпосередньо впливають на швидкість і повноту вивільнення лікарських речовин. Правильний підбір допоміжних речовин з урахуванням їх фізико-хімічних та структурно-механічних властивостей, а також раціональне поєднання з діючими речовинами дозволяють створювати лікарські засоби з необхідними лікувальними властивостями [1, 2, 5, 8, 9].

Критерієм оцінки ступеня впливу окремого або декількох фармацевтичних факторів на ефективність лікарського засобу є біологічна доступність препарату. Застосування методу рівноважного діалізу крізь напівпроникну мембрану дозволяє робити висновки про біодоступність лікарської речовини на основі її кількості, що вивільнилася з лікарської форми. Цей метод може бути застосований для вибору оптимального складу діючих та допоміжних речовин, а також у випадку зміни складу чи технології приготування лікарської форми [2, 4, 6, 9].

З метою створення нової мазі для лікування ранового процесу та підвищення біодоступності діючих речовин, що входять до її складу, були проведені дослідження з вивчення впливу поверхнево-активних речовин на прикладі твіну-80 на ступінь вивільнення екстракту хлорофіліпту густого та розроблено спектрофотометричну методику визначення його концентрації в розчинах.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивільнення діючої речовини з мазей визначали за ступенем її дифузії в буферний розчин крізь напівпроникну мембрану. Для цього використовували діалізаційну камеру, що складається з зовнішнього та внутрішнього циліндрів. До нижнього отвору внутрішнього циліндра діалізаційної камери герметично прикріплювали напівпроникну мембрану. Наважку дослідного зразка (5,0 г) рівномірно наносили на поверхню мембрани, площа якої при діаметрі 50 мм складає 1963 мм<sup>2</sup>. Внутрішній циліндр з дослідним зразком вміщували в діалізаційну камеру, яка містить 50±0,5 мл фосфатного буферного розчину. Відбір проб (5мл) проводили за допомогою піпетки через кожні 60 хвилин. Після відбору проби об'єм буферного розчину в діалізаційній камері доводили до 50 мл. Під час досліду зразки витримували в термостаті ТС-80-М-2 при температурі 34±1°C, що відповідає температурі шкіри людини. Тривалість дослідження складала 6 годин. Середовищем для діалізу було обрано фосфатний буферний розчин з рН 5,6, за допомогою якого моделювали умови I фази ранового процесу.

Одним з найбільш розповсюджених методів ідентифікації і кількісного визначення лікарських речовин є адсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях спектра. Вивчення спектрів поглинання та розробка спектрофотометричної методики визначення концентрації розчинів екстракту хлорофіліпту густого проводили відповідно до вимог ДФУ 2.2.25 [3].

Оптичну густину одержаних зразків діалізату визначали на спектрофотометрі СФ-46 в кю-

© В. В. Ковальов, В. О. Грудько, В. І. Чуєшов, 2009

веті з товщиною шару 1 см при довжині хвилі 270 нм. При необхідності відібрані проби розводили фосфатним буферним розчином з рН 5,6 до одержання розчину з оптимальним значенням оптичної густини, що знаходиться в межах підпорядкування закону Бугера-Ламберта-Бера. Як контрольний розчин використовували фосфатний буферний розчин з рН 5,6. Концентрацію одержаних у результаті діалізу розчинів розраховували, використовуючи дані оптичної густини стандартних розчинів, одержаних при побудові градуувального графіка [3].

Вивчення меж підпорядкування закону Бугера-Ламберта-Бера показало, що кількісне визначення екстракту хлорофіліпту густого методом спектрофотометрії в середовищі буферного розчину з рН 5,6 може бути проведено в межах концентрацій від  $0,4 \cdot 10^{-5}$  до  $2,0 \cdot 10^{-5}$  г/мл. Питомий показник поглинання при цьому складає  $209,3 \pm 0,9$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З метою вивчення можливості розробки методу кількісного визначення концентрації розчинів хлорофіліпту нами були проведені дослідження його адсорбційного спектра. Оскільки екстракт хлорофіліпту густого практично нерозчинний у воді, спочатку вивчали його спиртові розчини (рис. 1) [7].

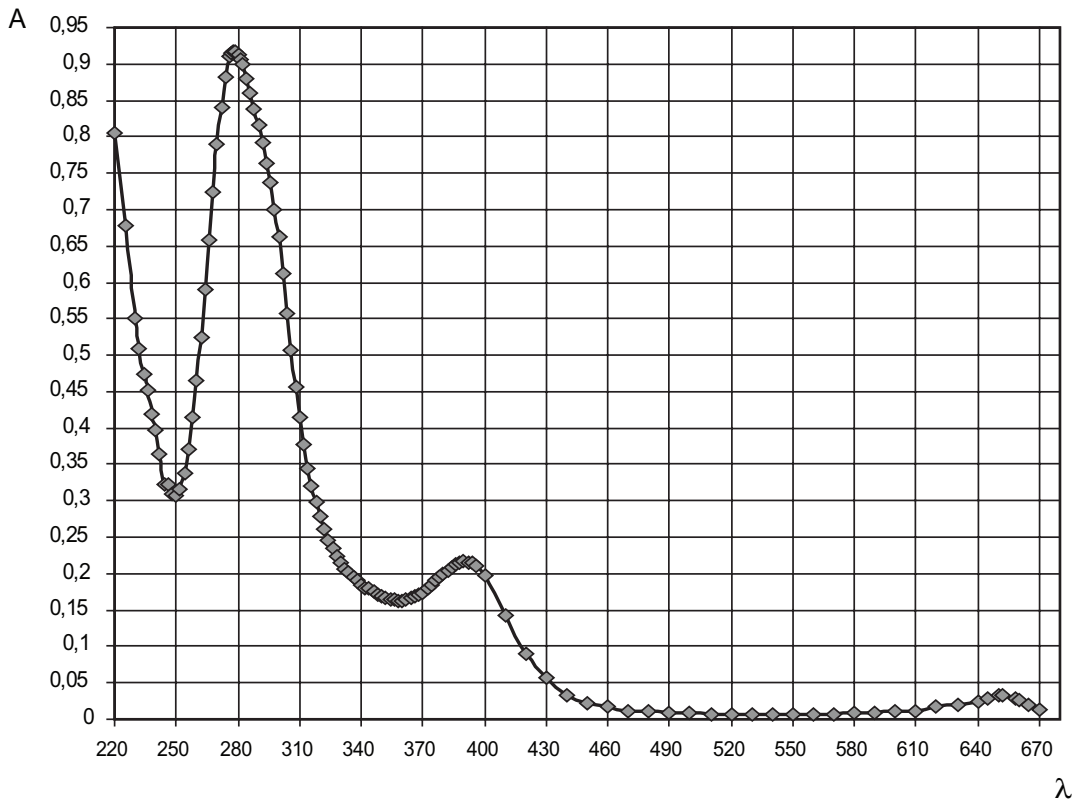


Рис. 1. Адсорбційний спектр спиртового розчину екстракту хлорофіліпту густого.

У спектрі спиртового розчину екстракту хлорофіліпту густого (рис. 1) виявлено 3 максимуми поглинання. Найбільш інтенсивний максимум поглинання розміщений при довжині хвилі 278–280 нм. Можна зробити припущення, що він відповідає електронним переходам у гетероароматичних пірольних циклах. Другий максимум поглинання розміщений при 390 нм. У цій зоні поглинають речовини, забарвлені у відтінки жовтого кольору. За даними літературних джерел, для більшості хлорофілів характерна наявність  $\lambda_{\max}$  400–430 (так звана смуга Core), але в нашому випадку можна зробити припущення, що це можуть бути і каротиноїди, які містяться в тилакоїдних мембранах разом з хлорофілами. Третій пік з максимумом поглинання при 652 нм, напевно, відповідає поглинанню супряженої системи порфіринових циклів, яка бере участь у переносі електронів під час фотосинтезу [7].

Таким чином, найбільшу чутливість забезпечить проведення аналізу за максимумом широкої, високоінтенсивної смуги поглинання спиртового розчину екстракту хлорофіліпту густого при  $\lambda_{\max}$  278–280 нм.

Відомо, що положення максимуму поглинання і його інтенсивність значною мірою залежать від розчинника і рН середовища. Виходячи з цього, нами був досліджений адсорбційний

λ

спектр діалізату, одержаного через 6 годин діалізу зразка мазі на ПЕО-основі у фосфатний буферний розчин з рН 5,6. Аналіз одержаного спектра (рис. 2) показує, що дійсно в середовищі фосфатного буферного розчину з рН 5,6 у порівнянні зі спектром поглинання спиртового розчину екстракту хлорофіліпту густого відбувається гіпсохромне зміщення смуги поглинання з 278–280 нм до 270–272 нм.

Інтенсивність одержаного поглинання невелика, що ще раз підтверджує правильність вибору аналітичної смуги поглинання, оскільки низький вміст екстракту хлорофіліпту густого в діалізаті робить неможливим визначення по більш специфічному, але низько інтенсивному максимуму при 652 нм.

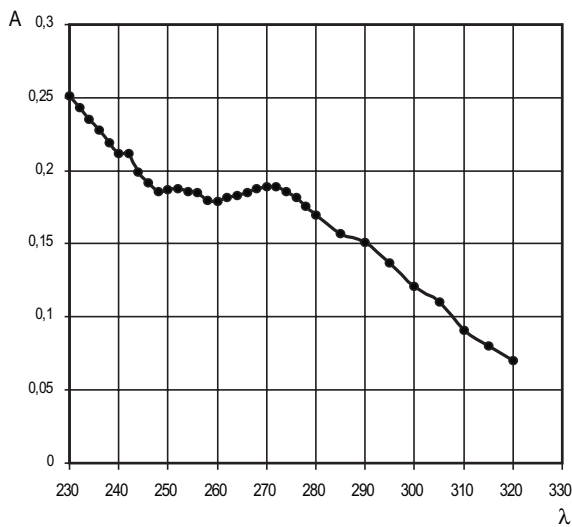


Рис. 2. Адсорбційний спектр діалізату досліджуваного зразка мазі на ПЕО-основі через 6 годин експерименту.

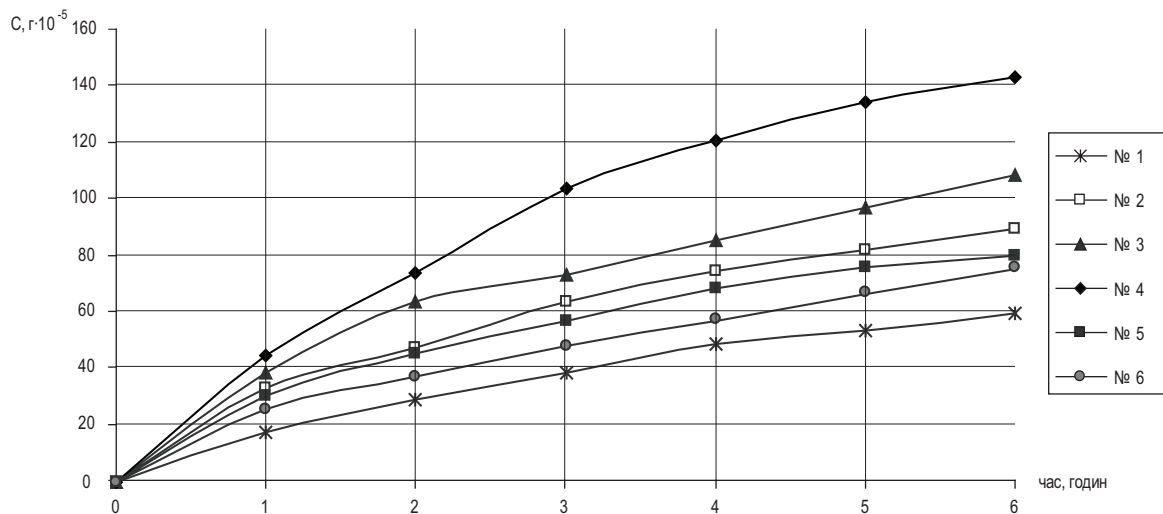


Рис. 3. Динаміка вивільнення екстракту хлорофіліпту густого з дослідних зразків мазей  $n=6$ ,  $P=95\%$ .

Вивчення меж підпорядкування світлопоглинання закону Бугера-Ламберта-Бера показало, що кількісне визначення екстракту хлорофіліпту густого методом спектрофотометрії в середовищі буферного розчину з рН 5,6 може бути проведено при концентраціях від  $0,4 \cdot 10^{-5}$  до  $2,0 \cdot 10^{-5}$  г/мл. Питомий коефіцієнт поглинання при цьому складає  $209,3 \pm 0,9$ .

Вивільнення екстракту хлорофіліпту густого вивчали методом рівноважного діалізу крізь напівпроникну мембрану. Для проведення досліджень були приготовлені модельні зразки мазей на поліетиленоксидній основі з вмістом ПЕО-400 та ПЕО-1500 6:4. Як відомо з джерел літератури, ПАР здатні впливати на біодоступність більшості діючих речовин. Саме тому нами було проведено дослідження впливу твіну-80 на ступінь вивільнення екстракту хлорофіліпту густого [2, 4, 6, 8].

Результати, одержані в процесі вивчення біодоступності лікарської речовини методом рівноважного діалізу крізь напівпроникну мембрану, не є абсолютними і мають відносне значення при порівнянні даних, одержаних у процесі дослідження двох або декількох зразків. У той же час при стандартизації умов експерименту одержані дані дозволяють оцінити відносну біодоступність діючих речовин і провести порівняльну характеристику досліджуваних препаратів.

Виходячи з цього, нами були виготовлені дослідні зразки мазі з екстрактом хлорофіліпту густого в концентрації 1% на ПЕО основі 6:4 (зразок №1) та зразки з додаванням твіну-80 в концентрації 0,5% (зразок №2), 0,75% (зразок №3), 1,0% (зразок №4), 1,25% (зразок №5), 1,5% (зразок №6). Результати проведених досліджень наведені на рис 3.

Як видно з даних, наведених на рис. 3, концентрація твіну-80 значно впливає на ступінь вивільнення екстракту хлорофіліпту густого. Найбільша кількість хлорофіліпту на шосту годину досліду спостерігається в діалізаті зразка № 4, що містить 1 % твіну-80 ( $143,3 \cdot 10^{-5} \text{г}$ ). Підвищення вмісту твіну-80 до 1,25 % і 1,5 % навпаки призводить до зниження концентрації екстракту хлорофіліпту густого в діалізаті. Подібний ефект можна пояснити тим, що спочатку ліпофільний ланцюг аліфатичних спиртів твіну за механізмом гідрофобної взаємодії зв'язується з ліпофільною частиною молекул хлорофілів, завдяки чому підвищує їх гідрофільність і розчинність у буферному розчині. Подальше збільшення вмісту твіну-80 призводить не лише до підвищення гідрофільності емульгованих молекул хлорофілів, але і до збільшення кількості водневих зв'язків з молекулами поліетиленоксидів, тим самим уповільнюючи діаліз.

Таким чином, у результаті проведеного дослідження встановлено оптимальну концентрацію твіну-80 в розробленому складі мазі — 1 % і експериментально доведено, що він сприяє вивільненню екстракту хлорофіліпту густого з маzewої основи. Результати проведених досліджень підтверджують значний вплив ПАР на біодоступність діючих речовин і можуть бути використані для вдосконалення технології м'яких лікарських форм.

#### ВИСНОВКИ

1. Методом рівноважного діалізу крізь напівпроникну мембрану вивчено залежність біологічної доступності екстракту хлорофіліпту густого у складі мазі на гідрофільній основі від концентрації твіну-80.
2. Максимальне вивільнення активного інгредієнта спостерігається при концентрації твіну-80 — 1 %.
3. Розроблено методику спектрофотометричного визначення концентрації розчинів екстракту хлорофіліпту густого у фосфатному буферному розчині з рН=5,6.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Алексеева И. В. Разработка лекарственных форм для лечения ран / И. В. Алексеева // Фармация. — 2003. — № 2. — С. 43–45.
2. Безуглая Е. П. Исследование высвобождения некоторых лекарственных веществ из различных основ для мазей и суппозитория / Е. П. Безуглая, А. Г. Фадейкина, А. А. Лысокобылка // Фармаком. — 1999. — № 1. — С. 26–98.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — Доп. 2. — 2008. — 618 с.
4. Иванов Л. В. Изучение механизмов влияния поверхностно-активных веществ на биодоступность и фармакологическую активность мягких лекарственных средств / Л. В. Иванов, А. Ф. Пиминов, Ю. В. Зеленин // Вісник фармації. — 2002. — № 2(30). — С. 146–148.
5. Guy R. H. Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model / R. H. Guy, R. O. Potts // Am. J. Ind. Med. — 1993. — Vol. 23, № 4. — P. 711–719.
6. Kata M Optimization of bioavailability of pharmacoms / M. Kata, Z. Aignez, I. Eros // Acta Pharmaceutica Hungarica. — 1998. — Vol. 68, № 2. — P. 107–112.
7. Moberd L. Spectrofluorimetric determination of chlorophylls and pheopigments using parallel factor analysis / L. Moberd, G. Robertson, B. Karlberg // Talanta. — 2001. — Vol. 54, № 1. — P. 161–170.
8. Panchagnula P Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research / P. Panchagnula, N. Thomas // Int. J. Pharmac. — 2000. — Vol. 17, № 4. — P. 131–150.
9. Sevdelloachim K. Drug membrane interaction and the importance for drug transport, distribution, accumulation, efficacy and resistance / K. Sevdelloachim, T. Michael // Arch. Pharm. — 1994. — Vol. 327, № 10. — P. 601–610.

**УДК 615.454.1: 542.64: 543.42.062**

**В. В. Ковалев, В. А. Грудько, В. И. Чуешов**

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТВИНА-80 НА КИНЕТИКУ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ЭКСТРАКТА ХЛОРОФИЛЛИПТА ГУСТОГО ИЗ МАЗИ НА ГИДРОФИЛЬНОЙ ОСНОВЕ**

На примере твина-80 экспериментально доказано значительное влияние поверхностно-активных веществ на кинетику высвобождения экстракта хлорофиллипта густого из мази на гидрофильной основе, для чего разработана методика спектрофотометрического определения его концентрации в растворах.

**Ключевые слова:** мазь; экстракт хлорофиллипта густой; биодоступность; диализ; кинетика высвобождения; спектрофотометрия

**UDC 615.454.1: 542.64: 543.42.062**

**V. V. Kovalyev, V. O. Grudko, V. I. Chuyeshov**

**INVESTIGATION OF TWEEN-80 INFLUENCE ON RELEASE CHLOROFILLIPT EXTRACT RICH FROM HYDROPHILIC BASE OINTMENT**

High influence of surface active substances on chlorofillipt extract rich release from hydrophilic base ointment on the example of tvin-80 has been proved experimentally. Spectrofotometric methodic for concentration chlorofillipt extract rich definition in solution has been developed.

**Key words:** ointment; chlorofillipt extract rich; bioavailability; dialysis; release kinetics; spectrophotometry

*Адреса для листування:*

61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.

Кафедра технології ліків НФаУ.

Тел.: 8(057)67-91-84

*volodyakvv@gmail.com*

Надійшла до редакції: 11.11.09