

**БОБОКАЛОНОВ  
ДЖАМШЕД ТОЛЕХМУРОДОВИЧ**

**Фармакокинетика новых лекарственных  
форм пироксикама**

14.03.06 –фармакология, клиническая фармакология  
(экспериментальное исследование)

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук



Душанбе – 2011

Работа выполнена в лабораториях «Фармакология» и «Высокомолекулярные соединения» Института химии им. В.И. Никитина Академии наук Республики Таджикистан.

**Научные руководители:** доктор медицинских наук, профессор  
**Рахимов Исматулло Фатхуллоевич**

доктор химических наук, профессор  
**Мухидинов Зайниддин Камарович**

**Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук, профессор  
**Гулин Александр Владимирович**  
ГОУ ВПО "Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина"

доктор биологических наук, профессор  
**Юлдошев Химоиддин Юлдошевич**  
Таджикский национальный университет

**Ведущая организация:** кафедра фармакологии Таджикского государственного медицинского университета им. Абуали ибни Сино

Защита диссертации состоится «27» сентября 2011 г. в 13 00 часов на заседании диссертационного совета КМ.047.003.01 при Институте химии им. В.И. Никитина АН РТ по адресу: 734063, Душанбе, ул. Айни, 299/2 e-mail: [rif52@mail.ru](mailto:rif52@mail.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химии АН РТ по адресу: 734063, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2.

Автореферат разослан: «26» августа 2011 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук



Рахимов И.Ф.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** В настоящее время все большее внимание фармацевтической науки, в том числе и фармацевтической технологии, уделяется созданию новых лекарственных форм (ЛФ) с улучшенными биофармацевтическими характеристиками. В этой связи большой интерес представляют ЛФ с пролонгированным и контролируемым высвобождением, которые имеют ряд преимуществ перед традиционными ЛФ.

В последние десятилетия проводятся интенсивные исследования и разработка систем доставки лекарственных веществ (СДЛ) на основе биосовместимых, биodeградируемых природных полимеров с контролируемым высвобождением фармакологически активного вещества (ФАВ). Пролонгированная доставка ФАВ в организм в требуемых дозах позволяет устранить многие недостатки перорального, инъекционного, ингаляционного и других способов их введения при использовании традиционных лекарственных форм. Такими недостатками, чаще всего, являются повышенная токсичность и нестабильность ФАВ, неравномерная скорость их подачи, неэффективный расход действующего начала и др. Использование СДЛ дает возможность планомерно и целенаправленно вводить в организм требуемую дозу ФАВ, что особенно важно при терапии хронических заболеваний.

В настоящее время природные полимеры, получаемые из сельскохозяйственных отходов, привлекают большое внимание для применения в различных областях и, в частности, в медицине и фармации. Они обладают широким спектром полезных эксплуатационных характеристик, среди которых, прежде всего, следует отметить биосовместимость и способность к биodeградации с образованием полезных для организма в целом конечных продуктов. В Институте химии им. В.И. Никитина АН РТ разработана технология получения пектина из различных сельскохозяйственных отходов, который используется в качестве полимераносителя для исследования и разработки новых лекарственных форм.

Большинство работ в мире по созданию СДЛ ведутся с использованием синтетических биоразлагаемых полимеров, на основе молочной кислоты, таких как полилактиды, полигликолиды и их сополимеры, имеющие ряд недостатков. Полученные в настоящей работе гидрогелиевые микросферы на основе полимеров растительного происхождения пектина и зеина позволят разработать новые ЛФ, исключаяющие воспалительную тканевую реакцию при применении СДЛ на основе синтетических полимеров.

Сложность количественного описания кинетики высвобождения ЛВ связана с необходимостью учета специфики состояния полимерной композиции, т.е. ее структуры и морфологии. Более того, среди научных и патентных публикаций в указанной области лишь крайне ограниченное число работ описывает транспорт в терапевтических матрицах, полученных из смесевых гидрогелей.

Данная работа посвящена разработке и изучению гидрогелиевых микросфер на основе пектина и зеина, как направленный поиск новых лекарственных форм, способных длительное время осуществлять контролируемое высвобождение ЛВ с учетом диффузии и гидролитического разложения, что свидетельствует об актуальности исследования.

**Цель работы** – заключалась в фармакологическом изучении кинетики высвобождения модельного лекарственного вещества (пироксикама) из разработанных гидрогелевых микросфер на основе природных полимеров пектина и зеина как средства доставки лекарств в тонком и толстом отделах кишечника с учетом диффузии и их гидролитических разложений.

**В соответствии с целью были определены следующие задачи:**

- ✓ разработать и обосновать принципы создания СДЛ нового поколения на основе изучения предыдущих исследований;
- ✓ создать ЛФ пироксикама путем его инкапсулирования в СДЛ на основе биополимеров пектина и зеина;
- ✓ изучить кинетику высвобождения пироксикама из ЛФ носителя-полимерных гидрогелей и микросфер на основе зеина и пектина в опытах *in vitro*.
- ✓ выявить влияние таких определяющих характеристик системы, как структура биополимеров, их соотношение, степень захвата лекарственного вещества (ЛВ), тип сшивающего металла и форма носителя, на кинетику высвобождения ЛВ из зеин-пектиновых микросфер (ЗПМ) СДЛ в условиях *in vitro*;
- ✓ провести комбинированные исследования высвобождения ЛВ из СДЛ на основе ЗПМ в опытах *ex vivo* и *in vivo* для оценки возможности их применения в качестве лекарственной формы;
- ✓ разработать математическую модель транспорта фармакологически активного ЛВ из СДЛ.

**Научная новизна работы:** впервые получены ЛФ пироксикама в виде микросфер на основе зеина кукурузы и петинов цитрусовых, яблочных и подсолнечника;

- проведена биофармацевтическая оценка модельных ЛФ в условиях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo* и показан двухстадийный механизм процесса высвобождения ЛВ из ЗПМ: первый связан с набуханием полимерной цепи с преобладанием диффузионных процессов; второй – с доминированием ферментативной деструкции пектиновой матрицы и выходом ЛВ соответствующий диффузионному суперслучаю II, соответствующему кинетике нулевого порядка;
- показано, что на процесс образования комплексов, степень насыщения микросфер лекарством и кинетические параметры влияют природа биополимеров, их соотношение, присутствие двухвалентных металлов и молекулярная масса пектина;
- показано, что биполимерный композиционный носитель обладает бимодальным высвобождением и предполагает создание хронофармакологическую систему с постепенным нарастанием концентрации ЛВ в крови через определенный интервал времени от начала приема;
- разработана математическая модель процесса высвобождения ЛВ из гидрогелевых ЗПМ, основанная на изменении соотношения биополимеров и степени их заполнения ЛВ, позволяющая регулировать скоростью диффузии,

необходимую при создании матричных пролонгированных систем для контролируемого высвобождения ЛВ;

- обнаружено, что зеин-пектиновые гидрогели с ионами  $Zn^{2+}$  проявляют большую устойчивость при контакте с физиологическим раствором, чем гидрогели, сформированные с ионами  $Ca^{2+}$ .

**Практическая ценность работы.** Результаты исследования фармакокинетических, физико-химических, диффузионно-транспортных и технологических свойств полученных композиционных носителей на основе пектина и зеина позволили обосновать технологию получения СДЛ, которые обеспечат биофармацевтические характеристики, необходимые для пролонгированных ЛФ и ЛФ с направленной доставкой ЛВ в кишечник.

Разработанные зеин-пектиновые гидрогелевые системы биосовместимы, их адгезивные участки полисахаридной цепи могут являться потенциальными носителями белков, гена и культур клеток. Кроме того, гидрогели могут использоваться в качестве контактных линз и заменителей межтканевых жидкостей в тканевой инженерии. Следовательно, разработанные системы могут быть использованы для длительной и контролируемой дозировки, активных ингредиентов в лечебных и профилактических целях.

Экспериментально было определено, что полученные биополимерные комплексы деградируются только в кишечнике, что, несомненно, предоставляет потенциальную возможность для широкого их клинического применения для доставки ЛВ чувствительных к ферментам и кислой среде ЖКТ при лечении широкого спектра заболеваний.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, из них 6 статей (в журналах, рекомендованных ВАК РФ), 8 тезисов и одна глава в книге Американского химического общества.

**Апробация полученных результатов.** Основные результаты работы доложены на Республиканских и Международных конференциях: CRE XI-Green Chemical Reactor Engineering Conferences (Билбао, Испания, Август 26-31, 2007) «Drug Design and development», ISTC International Expert meeting (Москва, Россия, декабрь 10-11, 2007); 4<sup>th</sup> St.-Petersburg Young Scientists Conference (С. Петербург, Россия, апрель 15-17, 2008.); 6 Нумановском чтении (Душанбе, 29-30 Мая 2009.); 5<sup>th</sup> St. Petersburg Young Scientist Conferences. “Modern problem of Polymer Science (С. Петербург, Россия, октябрь 19-22, 2009); Международной конференции Института Питания РТ, (Душанбе, 2009); Пятая Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2010», (Москва, Россия, 21-25 июня, 2010).

***Связь темы диссертационной работы с планом научных работ учреждения.*** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Института химии им. В.И. Никитина АН Республики Таджикистан «Поиск и создание новых полимерных материалов и биологически активных веществ на базе продуктов синтетического и растительного сырья» (ГР №0106ТД414), «Синтез, выделение и исследование стереохимии и фармакологических свойств производных ацетилена, триадолидинтионов, триадазолпиримидинов, а также природных растительных масел, являющихся перспективными для создания новых лекарственных средств»

(ГР №0106ТД413) и проекта Т-1419 МНТЦ «Разработка и оценка пектин/протеиновых форм для доставки лекарств в кишечник».

***Положения, выносимые на защиту:***

- зеин-пектиновые гидрогели и некоторые особенности формирования систем доставки на их основе с максимальным захватом ЛВ;
- диффузионно-транспортные характеристики модельного ЛВ на примере пироксикама из зеин-пектиновых систем доставки в условиях, имитирующих продвижение по желудочно-кишечному тракту;
- результаты фармакокинетических исследований параметров высвобождения пироксикама из полученных СДЛ, с целью доставки его в толстый отдел кишечника и в кровь;

***Структура и объем диссертации.*** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой отечественной и зарубежной литературы, включающего 85 источников. Работа изложена на 102 страницах компьютерного текста, содержит 14 рисунков и 8 таблиц.

## **Глава 1. Литературный обзор**

Обобщены и проанализированы литературные данные, о перспективах развития производства лекарственных форм и систем доставки лекарств на основе биополимеров.

## **Глава 2. Материалы и методы исследования**

Описаны характеристики исходных материалов, способы очистки и методы контроля степени их чистоты. Приведены методы получения зеина и пектинов из растительных материалов, изучение влияния носителей ЛВ на показатели общего состояния животных. Описаны процедуры проведения фармакологических экспериментов по испытанию исследуемого вещества на основе пектин/белковых комплексов при их введении белым беспородным крысам.

## **Глава 3. Результаты и их обсуждение**

### ***Гидрогелевые микросферы пектина с зеином как носители ЛВ***

Пектиновые полисахариды и белки, как биоразрушающиеся и биосовместимые природные полимеры, стали широко использоваться в фармацевтической промышленности при создании СДЛ. Для успешной доставки ЛВ в нужное пространство, необходимо, чтобы полимерный носитель не разлагался в верхней части ЖКТ. Способность зеина формировать комплексы с полисахаридами широко используется во многих областях, включая медицину.

Настоящее исследование направлено на создание нового типа ЛФ, с использованием в качестве ЛС нестероидного противовоспалительного препарата – пироксикама (РХ), а для его транспортировки – пектин-зеиновые (П/З) комплексы. Такой подход продиктован, прежде всего, тем, что большинство ЛВ, плохо

растворимы в воде, это в свою очередь приводит к медленной адсорбции их при оральном приеме и является одной из причин возникновения побочных эффектов в ЖКТ. Контролируемый прием терапевтических доз ЛВ эффективен, если доза будет поддерживаться продолжительный период, т.е. подчиняться законам кинетики первого порядка. Спад концентрации ЛВ в крови ниже определенного уровня считается не эффективным. Более того, некоторые лекарства являются токсичными при высокой концентрации в крови и очень трудно достигнуть баланса между эффективным и токсичным уровнем, когда спад концентрации лекарственного вещества в крови происходит быстро. Следовательно, необходимы исследования, нацеленные на усовершенствование методов достижения контролируемого и постоянного приема ЛС.

Получение ЗПМ основывалось на идее создания целенаправленной системы доставки ЛВ, которая обеспечит целостность его в физиологической среде желудка и тонкой кишки. Механизм действия такой системы основан на том, что пектин, стабилизированный поперечными связями ионами металла, способен защитить протеин от воздействия протеаз. Зеин, в свою очередь, располагаясь на поверхности и внутри полимерной сетки, будет препятствовать быстрому высвобождению лекарства. Однако следует учитывать, что скорость высвобождения лекарства будет также зависеть от ряда факторов: типа пектин-протеинового взаимодействия, плотности упаковки полимерной цепи, соотношения и структуры самих биополимеров.

### **Микросферы на основе низкометилированного (НМ-) цитрусового пектина и зеина**

Полученные данные показали, что выход микрокапсул, полученных на основе цитрусового НМ пектина (НМЦ-31) и степень насыщения комплексов РХ зависят от соотношения П/З: чем больше зеина в комплексе, тем больше степень связывания РХ. При всех соотношениях П/З, с увеличением содержания зеина от 1 до 5, эффективность инкапсулирования увеличивается от 9.8 до 93.8 масса%. В то же время необходимо отметить, что желаемый эффект не был достигнут при увеличении количества РХ в 10 раз при соотношении П/З 1.4. Это, по-видимому, связано с природой биополимеров и плотностью упаковки гидрофобных участков полимерной цепи. В данном случае можно утверждать, что в образовании комплексов участвуют энтальпийные факторы.

### **Микросферы на основе яблочных пектинов и зеина**

На основе высокометилированного (ВМ-) яблочного пектина в присутствии ионов двухвалентных металлов, образовывались слабые по структуре гидрогелевые шарики, которые затем трансформировались в агрегаты. Степень связывания РХ в комплексы была больше у НМ-, чем у ВМ- пектина. Эти отличия, как уже отмечалось, связаны с особенностями структуры полисахарида, образующего с зеином коацерваты, способные захватывать большее количество ЛВ.

Полученные данные подтверждают предположение о том, что ионы  $Zn^{2+}$ , по сравнению с ионами  $Ca^{2+}$ , как сшивающие металлы, способствуют образованию более компактной структуры с пектином, что представляется важным при созда-

нии носителей ЛВ стойких к преждевременному высвобождению ЛВ в верхней части ж/к тракта. Кроме того, гидрогели с ионами цинка при контакте с физиологическим раствором проявляли большую механическую прочность, чем с ионами кальция.

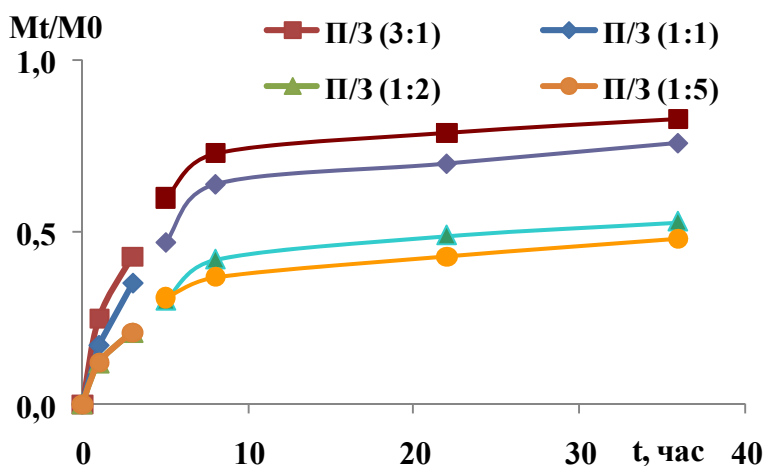
Это, вероятно, происходит вследствие частичного обмена ионов кальция на ионы натрия на участках гомогалактуронановых цепей с нерегулярными карбоксильными группами, нежели модел «яичных коробок», которые обычно образуются с этими ионами в блочных участках.

Таким образом, в результате исследований определены оптимальные условия получения микросфер на основе природных биополимеров - пектина и зеина с инкапсулированным ЛВ. Показано, что на процесс образования комплексов, степень насыщения микросфер лекарством влияют природа биополимеров, их соотношение, тип двухвалентных металлов и молекулярная масса пектина. При формировании микросфер с использованием НМ-пектинов комплексы образуются, в основном, за счет поперечных связей с ионами двухвалентных металлов, а в случае с ВМ-пектином, за счет гидрофобных взаимодействий биополимеров. В результате получен ряд микросфер, на основе биоразрушающих и биосовместимых полимеров - пектина и зеина, которые могут найти применение при создании носителей ЛВ с контролируемым высвобождением.

### Кинетика выхода пироксикама из пектин-зеиновых комплексов в опытах *in vitro*

На рис. 1 представлена кинетика высвобождения РХ из П/З комплексов с высоким и низким содержанием НМ-31 цитрусового пектина в условиях моделирующей среду желудка. Мы предполагали, что РХ адсорбированный на поверхности пектината кальция будет высвобождаться в первые часы инкубации по механизму растворения.

**Рис.1.** Кинетика высвобождения пироксикама из пектин-зеиновых микросфер в условиях, моделирующих среду желудочно-кишечного тракта: при рН 1.2 и рН 6.4;



Полученные результаты подтвердили данную

точку зрения: из комплексов с высоким соотношением П/З (6:1 и 3:1) высвобождалось около 40-50 вес % РХ в первые часы инкубации. При низком соотношении П/З (1:1, 1:2, 1:5) высвобождалось только 20 вес % РХ за тот же промежуток времени, остальная часть оставалась в комплексе, сдерживаемая зеиновой оболочкой, препятствующей проникновению гидрофобной среды.

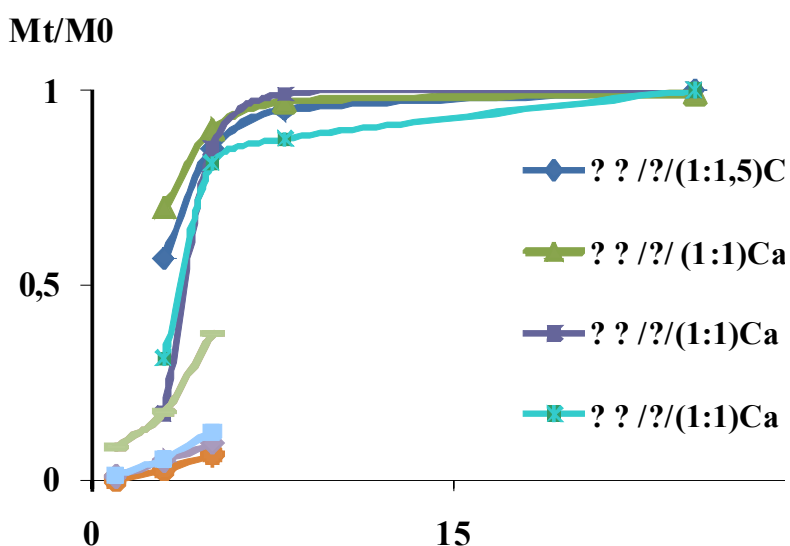
Аналогичная ситуация имела место в условиях, моделирующих среду кишечника. Кинетика высвобождения РХ из комплексов при рН 6.4 представленная



также на рис. 2, указывает на более высокий выход лекарства и составляет за тот же промежуток 50-70 вес %. Высокая степень высвобождения происходит вследствие набухания пектина в условиях среды, где пектиновые цепи более расширены. Это означает, что РХ в данных условиях быстрее проникает внутрь пектинового геля, чем в зеиновые цепочки. С увеличением содержания зеина, имеют место гидрофобные взаимодействия с РХ. Протеиновые цепи, расположенные на поверхности пектинового геля, могут также препятствовать выходу лекарства. Двухступенчатая скорость высвобождения РХ из комплексов, наблюдаемая на рис.2, обусловлена, вероятно, различным механизмом взаимодействия РХ с пектином и зеином.

С целью изучения механизма гелеобразования были получены комплексы П/З в форме гидрогелевых шариков, с инкапсулированным РХ, сформированные ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ . Показано, что при замене ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на ионы  $\text{Zn}^{2+}$  в комплексах с высоким содержанием зеина уменьшался вес гидрогелевых шариков и степень насыщения РХ от 95 до 80 вес %. С увеличением доли пектина заметно увеличивалось насыщение РХ (от 81 до 86 вес %). Вклад ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и РХ был продемонстрирован на примерах комплексов при соотношении П/З=1:1, где инкапсулирование лекарства достигало 99 вес %.

**Рис. 2.** Кинетика высвобождения пироксикама в среде, моделирующей желудочно-кишечный тракт, при рН 1,2 и 6,4 из НМ-9 цитрусовых пектин/зеиновых комплексов, содержащих  $\text{Ca}^{2+}$  и РХ:  $\text{Ca}^{2+}$  - 2 мл, 2%, РХ - 50 мг (■);  $\text{Ca}^{2+}$  - 1 мл, 2%, РХ - 20 мг (▲);  $\text{Ca}^{2+}$  - 2 мл, 2%, РХ - 50 мг (×)  $\text{Ca}^{2+}$  - 2 мл, 2%, РХ - 20 мг (\*).

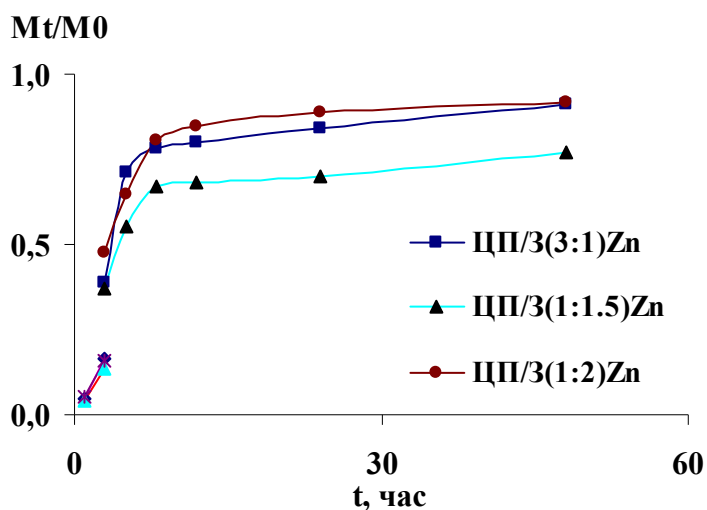


Результаты кинетических исследований комплексов с соотношением П/З 3:1, 1:1.5, 1:2, с низкометилированным (НМ-9) цитрусовым пектином, сформированных ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , в условиях моделирующих ЖКТ, представлены на рис.2. Как и предполагалось, полученные комплексы сдерживают лекарство в буфере, моделирующем среду желудка (рН 1.2), в данных условиях высвобождается только 10 вес % РХ. В буфере, моделирующем среду кишечника (рН 6.4), вначале происходит быстрое высвобождение РХ, вероятно с поверхностного слоя комплексов, с последующим спадом как функция времени. Как видно, все кинетические кривые подчиняются уравнению первого порядка.

На рис.3 представлена кинетика высвобождения РХ из комплексов НМ-31 с цитрусовым пектином с теми же соотношениями П/З, сформированные ионами  $\text{Zn}^{2+}$ .

Кинетика высвобождения ЛВ из комплексов, сформированных ионами  $Zn^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ , при pH 1,2 и 6,4 была схожа. Отличия заключались лишь в том, что степень высвобождения РХ из комплексов с соотношениями П/З = 1:1,5 и 1:1, сформированных ионами  $Zn^{2+}$ , при кишечном моделировании, представлена кинетикой нулевого порядка.

**Рис. 3.** Кинетика высвобождения пироксикама в среде, моделирующей желудочно-кишечный тракт, при pH 1,2 и 6,4 из НМ-9 цитрусовых пектин/зеиновых комплексов, содержащих  $Zn^{2+}$ .



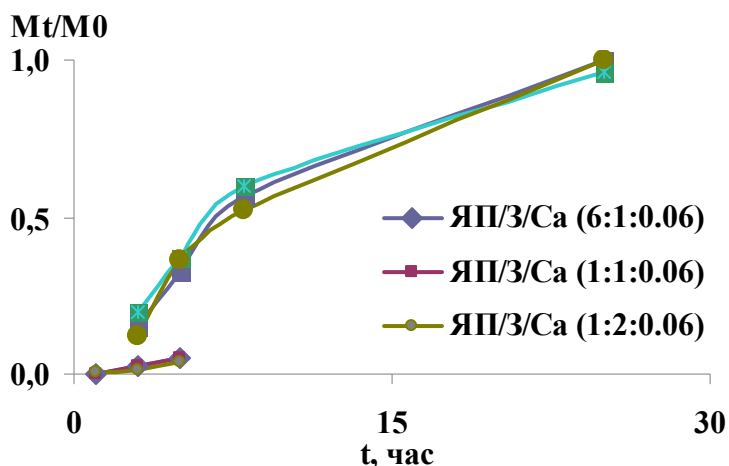
Доказательством превосходного эффекта сшивания ионов  $Zn^{2+}$  над традиционными ионами  $Ca^{2+}$  является теория, основанная на стереометрии данных элементов. Ионы  $Zn^{2+}$ , по сравнению с ионами  $Ca^{2+}$ , способны формировать более компактную структуру с пектином. Зеиновые спирали в такой матрице будут располагаться между гомо-галактуроновыми остатками пектина.

Нами было показано, что П/З комплексы отличаются по структуре в зависимости от свойств пектинов: пектины с низкой степенью этерификации и высоким содержанием галактуроновой кислоты в присутствии ионов металла способны формировать устойчивые по структуре гидрогелевые комплексы в форме шариков. Хорошо сформированные гидрогелевые шарики были получены с НМ-9 цитрусовым (L/200 CP Kelco) и высокомолекулярным ВМ-52 яблочным (ЯПМ, Шахринав) пектинами. С низкомолекулярным яблочным пектином НМ-40 (ЯПМ, Шахринав) в присутствии ионов металла образовывались слабые по структуре гидрогелевые шарики, которые затем трансформировались в коацерваты. Яблочный пектин, по сравнению с цитрусовым, как показали исследования, проведенные в нашей лаборатории, содержит большое количество арабиногалактуронана в боковой цепи (12- 23 вес % от общего содержания нейтральных сахаров в пектине), и способен образовывать устойчивые комплексы с белками.

Для сравнительной оценки степени устойчивости комплексов была исследована кинетика выхода РХ из комплексов, полученных с высокомолекулярным и низкомолекулярным яблочным пектинами. Кинетика выхода РХ их П/З комплексов с высокомолекулярным ВМ-52 яблочным пектином представлена на рис.4. Степень высвобождения РХ из этих комплексов, образованных ионами  $Ca^{2+}$ , оказалась более линейной, чем с цитрусовым пектином. Хотя первые обладали меньшей способностью к насыщению лекарством, они сдерживали почти 95 вес % РХ в условиях верхнего ЖКТ. Следует отметить, что кинетика высвобождения РХ в данном случае зависела не от соотношения П/З, а от типа пектин-зеинового взаимодействия, в котором участвуют боковые гидрофобные остатки зеина и арабиногалактуронана. Подобные гидрофобные системы способны препятство-

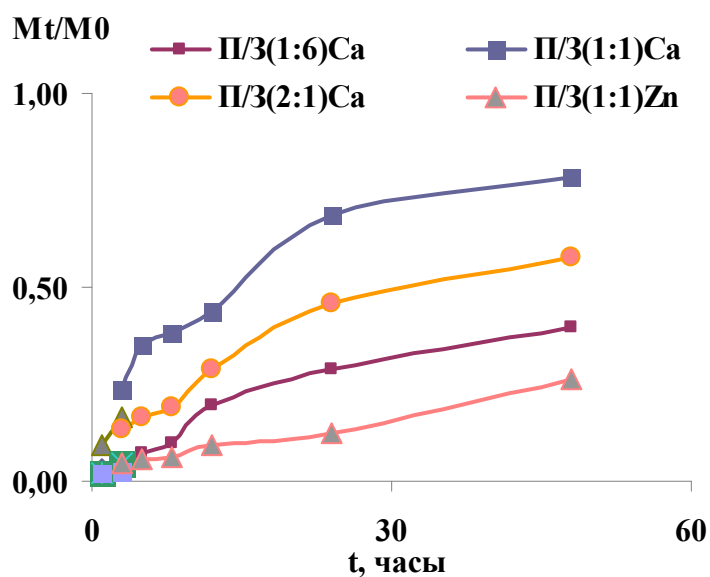
вать полной деградации наружной оболочки комплекса в течение периода тестирования.

**Рис. 4.** Кинетика высвобождения пироксикама в среде, моделирующей желудочно-кишечный тракт, при pH 1,2 и 6,4 из гидрогелевых пектин/зеиновых комплексов с высокомолекулярным яблочным пектином VM-52, содержащих  $\text{Ca}^{2+}$ .



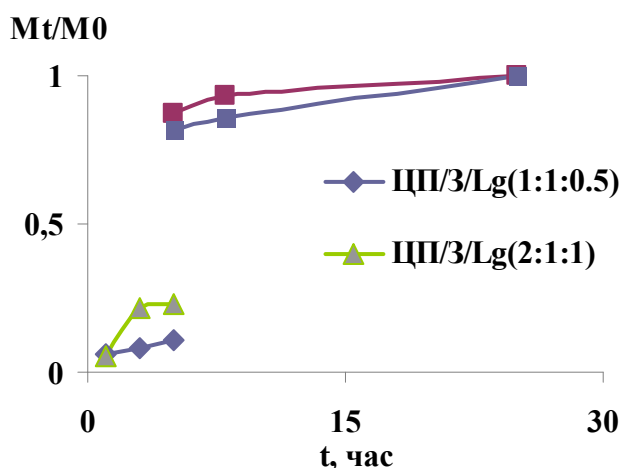
Кинетика высвобождения РХ из П/З комплексов с низкомолекулярным яблочным пектином НМ-40, сформированных ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ , представлена на рис. 5. По сравнению с комплексами, включающими высокомолекулярный пектин, данная система имела более высокое насыщение РХ (61-71 вес %). Общее количество РХ высвобожденное из гидрогелевых комплексов составляло менее 20 вес % после 8 часовой инкубации в условиях, моделирующих среду ЖКТ.

**Рис. 5.** Кинетика высвобождения пироксикама в среде, моделирующей желудочно-кишечный тракт, при pH 1,2 (до 2 часа) и 6,4 из гидрогелевых пектин/зеиновых комплексов с яблочным пектином, содержащих ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ .



В плане исследования процесса гелеобразования были получены смешанные комплексы, включающие пектин, зеин и лактоглобулин (LgC), выделенный из молочной сыворотки.

В данном случае наблюдался эффект фазового разделения двух несовместимых биополимеров – зеина и LgC. Содержание зеина в комплексах значительно понизилось в результате вытеснения его из комплекса, что привело к снижению способности насыщения РХ гидрогелевых комплексов.

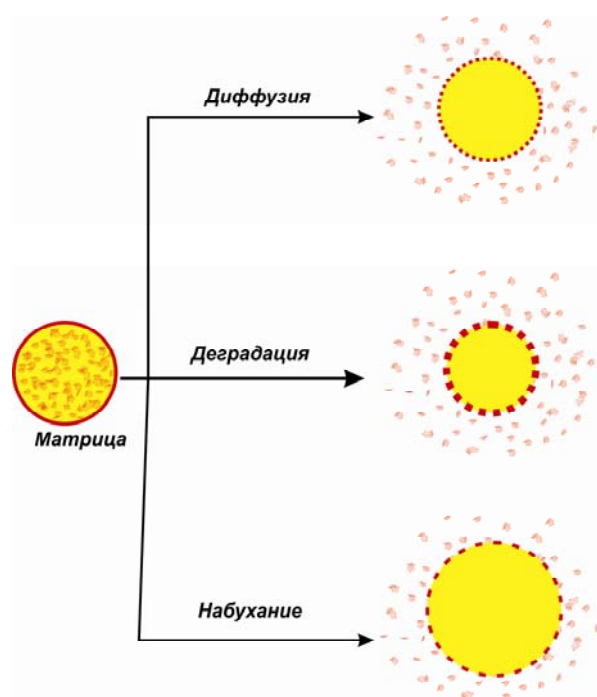


**Рис. 6.** Кинетика высвобождения пироксикама в среде, моделирующей желудочно-кишечный тракт, при pH 1,2 и 6,4 из пектин/зеин/Lg комплексов с цитрусовым НМ-9 пектином, содержащих  $\text{Ca}^{2+}$ .

Кинетика высвобождения РХ из смешанных комплексов П/З/LgC в условиях, моделирующих среду желудка была незначительная (рис. 6), как и для других систем. Когда гидрогелевые микросферы инкубировали в условиях, моделирующих среду кишечника, то наблюдался взрывной эффект: процент высвобожденного лекарства в течение первых 3 часов достигал 80 вес %, что указывает на значительный вклад зеина в процесс образования комплексов стойких к деградации.

### Математическое моделирование процесса высвобождения ЛВ из СДЛ

В технологиях конструирования СДЛ уровень диффузии растворенного вещества важен для определения количества высвобожденного ЛВ или транспорта питательных веществ. Диффузия инкапсулированных ЛВ зависит от множества факторов, включая морфологию сети, состав и набухание полимеров, содержание воды, концентрацию растворенных веществ и др. В случае с пектином, также и от природы иона двухвалентного металла, образующего поперечные связи с цепочками пектина. Эти основополагающие факторы могут комбинироваться, вызывая химическое или физическое влияние, замедляющее диффузию растворенного вещества (схема 1).



**Схема 1.** Основные механизмы высвобождения ЛВ из полимерного матрикса

Пеппас с соавторами (1987) представили данные, включающие последние достижения теории математического моделирования процесса высвобождения ЛВ из различных систем доставки, для их количественной характеристики, и механизмы, управляющие этим процессом.

Кинетические данные, полученные в настоящем исследовании, были обработаны нами согласно предложенным авторами уравнениям для кишечного ( $M_t/M_\infty < 0.5$ ) и желудочного ( $M_t/M_\infty > 0.5$ ) моделирования:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \left( \frac{Dct}{\pi \delta^2} \right)^{0.5} \quad (1)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \exp\left(-\frac{\pi^2 Dct}{\delta^2}\right) \quad (2)$$

где  $M_t/M_\infty$  относительная масса высвободившегося лекарства в условиях равновесия,  $t$  время,  $De$  и  $Dl$  коэффициенты диффузии при кишечном и желудочном моделировании,  $\delta$  диффузионный путь.

Полученные, таким образом, данные диффузии РХ из П/З гидрогелей приведены в табл. 1. Как видно, коэффициент диффузии РХ в начальный период, с увеличением доли зеина в гидрогелях снижается, и только при соотношении П/З 1:5 несколько возрастает. В этих условиях, возможно, происходит ионизация аминогруппы протеина, что способствует набуханию полимерной сетки и благоприятствует выходу РХ. Однако в условиях среды кишечника, коэффициент диффузии РХ меньше на два порядка и не изменяется от соотношения биополимеров.

Учитывая, что механизм высвобождения ЛВ зависит от структуры полимерной композиции, ее физического состояния, которые в свою очередь зависят от соотношения биополимеров, проводили оценку механизма диффузии ЛВ по уравнению Ритгер-Пеппаса:

$$M_t/M_\infty = k_1 t^n \quad (3)$$

где,  $k_1$  переменная константа,  $n$  константа характеризующая коэффициент диффузии и механизм транспорта ЛВ. Это уравнение используется для оценки совместного (парного) вклада диффузии, подчиняющегося закону Фика и высокоэластичной релаксации полимерной системы. При  $n=0.5$  она диффузионная, при  $n>0.5$  показывает аномальный транспорт, не подчиняющийся закону Фика, при  $n=1.0$  предполагает релаксационно-контролируемый транспорт, или так называемый «случай II».

С целью приближения результатов в реальных условиях при транспорте ЛВ в ЖКТ решение уравнения (3) проводили также для двух участков кинетических кривых: для малого времени эксперимента (до 4 часов), соответствующее среде желудка (рН 1.2), а для большего времени, после 5 часов инкубации в среде кишечника. Значения параметров  $k_1$  и  $n$ , полученные таким образом, разделились на условия при  $M_t/M_\infty < 0.5$  и  $M_t/M_\infty > 0.5$  (табл. 1).

**Таблица 1**

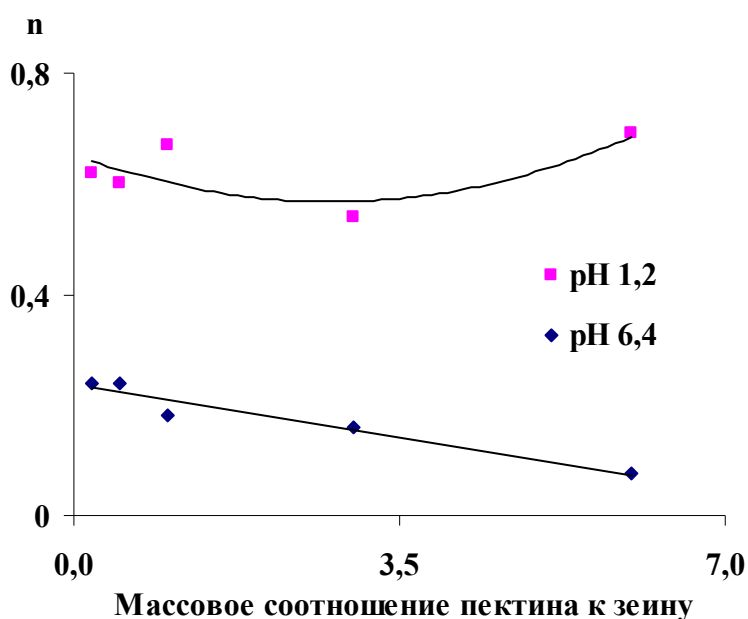
**Параметры уравнения Ритгер-Пеппаса  $k_1$  и  $n$  для пектин-зеиновых микросфер, полученных на основе цитрусового пектина при рН, моделирующих среду желудка и кишечника.**

Пектин/Зеин	РХ в компл., %	$M_t/M_\infty < 0.5, \text{pH } 1,2$			$M_t/M_\infty > 0.5, \text{pH } 6,4$		
		$k \cdot 10^2, \text{min}^{-1}$	$n$	$R^2$	$k \cdot 10^2, \text{min}^{-1}$	$n$	$R^2$
6.0	12.4	1.32	0.69	0.99	0.47	0.08	0.92
3.0	19.8	1.48	0.54	0.99	0.93	0.16	0.85
1.0	37.0	1.70	0.67	0.99	1.05	0.18	0.73
0.5	72.6	1.75	0.60	0.92	1.47	0.24	0.80
0.2	93.8	1.50	0.62	0.99	1.52	0.24	0.95

Анализируя механизм высвобождения, с использованием полученных результатов (рис. 7), можно сделать вывод, что десорбция РХ в условиях среды желудка (рН 1.2) при малом времени, только из микросфер при соотношении П/З 3:1, носит диффузионный характер ( $n = 0.54$ ), в то время как при других изучен-

ных соотношениях П/З, указывает на аномальный характер диффузии слабо подчиняющийся закону Фика.

**Рис. 7.** Зависимость параметра  $n$  (уравнение Ритгер-Пеппаса), характеризующего механизм диффузии ЛВ в пектин/зеиновых микросферах, от их массового соотношения при рН 1.2 и 6.4.



С увеличением рН среды (6.4) происходит ионизация свободных карбоксильных групп биополимеров приводящая к набуханию полимерной сетки, поэтому в механизм десорбции ЛВ при кишечном моделировании, вносят свой вклад также релаксационные эффекты.

В данных условиях  $M_t/M_\infty > 0.5$  механизм высвобождения ЛВ носит только диффузионный характер и изменяется от соотношения П/З (рис 7). Однако рост константы диффузии, вероятно, связан со степенью заполнения гидрогелевых носителей: с возрастанием количества РХ в гидрогелях скорость диффузии растет.

На основе анализа представленных результатов можно предполагать, что РХ адсорбированный на поверхности микросфер будет высвобождаться в первые часы инкубации по механизму диффузии и растворения ЛВ независимо от рН среды. Высокая степень высвобождения происходит вследствие релаксации полимерной сетки при воздействии напряжения в процессе набухания полимера в условиях среды. Кроме того, гидрофобные взаимодействия протеина с РХ должны еще больше замедлять выход ЛВ из полимерной сетки. С увеличением содержания зеина, при рН 1.2, должны усиливаться релаксационные процессы полимерной сетки за счет ионизации аминогрупп, однако этот процесс, из-за малого количества аминогрупп в зеине, заметного влияния на скорость диффузии не оказывает. В то время как при рН 6.4, с увеличением доли зеина, наблюдается рост скорости диффузии как из-за высокой степени заполнения гидрогелей РХ, так и за счет ионизации карбоксильных групп (в основном пектина). Необходимо отметить, что в микросферах с большим содержанием зеина (табл. 1), высвобождение ЛВ происходит скорее по механизму кооперативной десорбции: чем больше степень заполнения ЛВ микросфер, тем больше скорость диффузии.

Наблюдаемая двухступенчатая скорость высвобождения РХ из комплексов обусловлена, вероятно, различным механизмом взаимодействия РХ с пектином и зеином, который был показан ранее.

Поэтому, учитывая сложный характер системы и возможность образования кристаллических фаз РХ, результаты данной работы показывают, что лимитиру-

ющей стадией высвобождения остается не растворение кристаллов ЛВ в микросферах, а диффузия РХ из полимерных смесей различного состава. Таким образом, исследование характера диффузии в микросферических композициях пектина и зеина позволяют регулировать скорость высвобождения ЛВ в пределах десятичных порядков, что является необходимым при регулировании скорости десорбции низкомолекулярного компонента и, следовательно, при создании матричных пролонгированных систем для контролируемого высвобождения ЛВ.

### **Исследование токсичности зеин-пектинового композита на белых мышах и белых крысах**

Для изучения биологической активности пектина и его комплексов, предварительно проводили исследования воздействия испытуемых СДЛ на общее состояние и поведенческие реакции животных. Визуальные наблюдения за изменением общего состояния животных, выявление различных симптомов интоксикации, способствуют определению общего характера действия испытуемых веществ. Наряду с выявлением общего характера действия исследуемых соединений в этих же экспериментах, нами было проведено определение их острой и хронической токсичности.

Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 суток. В ходе эксперимента следили за поведением, внешним видом, двигательной активностью, реакцией животных на внешние раздражители, а также измеряли массу тела до введения изучаемого препарата и после окончания периода наблюдения. В случае летального исхода должна была фиксироваться клиническая картина отравления и проводиться вскрытие погибших крыс и мышей.

В экспериментах выявлено, что введение исследуемых СДЛ мышам и крысам в максимально допустимой дозе внутрижелудочно и подкожно не влияло на общее состояние животных. Симптомы острого отравления отсутствовали. В последующем все животные были активны, подвижны, с нормальной координацией движений, стандартной реакцией на внешние раздражители, обычной частотой и глубиной дыхательных движений, нормальной консистенцией фекальных масс, частотой мочеиспускания и окраской мочи, с хорошим аппетитом, нормальным внешним видом и состоянием шерстного покрова. В течение 14 суток эксперимента гибели животных не отмечено. За это время мыши и крысы прибавили в массу тела (табл. 2 и 3).

**Таблица 2**

#### **Изменение массы тела беспородных мышей до и через 14 суток после введения СДЛ ( $X \pm m$ )**

Путь введения СДЛ, доза на 1 кг массы тела	Масса животных		Прирост массы тела, г
	до введения СДЛ, г	на 14-е сутки наблюдения, г	
Внутрижелудочно, 4 г ( $n = 10$ )	24,63±0,51	30,07±0,45	5,44±0,48
Подкожно, 4 г ( $n = 10$ )	25,22±0,46	29,87±0,52	4,65±0,49

При анализе результатов изучения острой токсичности СДЛ симптомов острого отравления у всех экспериментальных животных не обнаружено, летальность отсутствовала, СДЛ хорошо переносили животные.

Исследования влияния более высоких доз СДЛ (свыше 4 000 мг/кг массы животного) было ограничено возможными объемами введения препарата лабораторным животным.

**Таблица 3**

**Изменение массы тела беспородных крыс до и через 14 суток после введения СДЛ ( $X \pm m$ )**

Путь введения СДЛ, доза на 1 кг массы тела	Масса животных		Прирост массы тела, г
	до введения СДЛ, г	на 14-е сутки наблюдения, г	
Внутрижелудочно, 4 г ( $n = 10$ )	199,73 ± 3,42	255,85 ± 8,99	56,12 ± 6,57
Подкожно, 4 г ( $n = 10$ )	200,54 ± 5,87	248,07 ± 6,93	47,53 ± 2,76

Двукратное внутрижелудочное и подкожное введение препарата в максимально возможных дозах токсического влияния на организм животных не проявило, что позволяет сделать вывод об его относительной безвредности (согласно классификации токсических веществ, Сидоров К.К., 1973).

Подтверждением отсутствия токсичности явились также эксперименты по изучению влияния СДЛ на печень, так как она является органом проявляющим детоксицирующие свойства.

Результаты экспериментов не позволили рассчитать ЛД<sub>50</sub> изучаемого комплекса, так как все животные были живы. Из литературных источников также известно, что при внутрижелудочном введении пектиновые комплексы, даже в дозе 12500 мг/кг массы тела, не оказывали токсического действия.

Полученные нами комплексы являются практически безвредными и не проявляют токсических свойств, являясь безопасными для органов и систем организма в целом. Установлено, что исследованный биополимерный комплекс при внутрижелудочном введении, по параметрам острой токсичности относится к малоопасным веществам, а при ежедневном нанесении на кожу в течение 7 дней - не вызывает раздражающего действия.

**Кинетика выхода пироксикама из зеин - пектиновых носителей в опытах *ex vivo***

В табл. 4 приводится дозировка СДЛ и время, за которое высвобождалось 50 % ЛВ. Как видно, полученные гидрогелевые носители при одинаковых соотношениях протеин/пектин имеют разные степени набухания, дозу и время выхода РХ.

На рис.8 представлена кинетика высвобождения РХ из пектин-зеиновых микросфер на основе яблочного и цитрусового пектинов при инкубации их с содержимым кишечника.



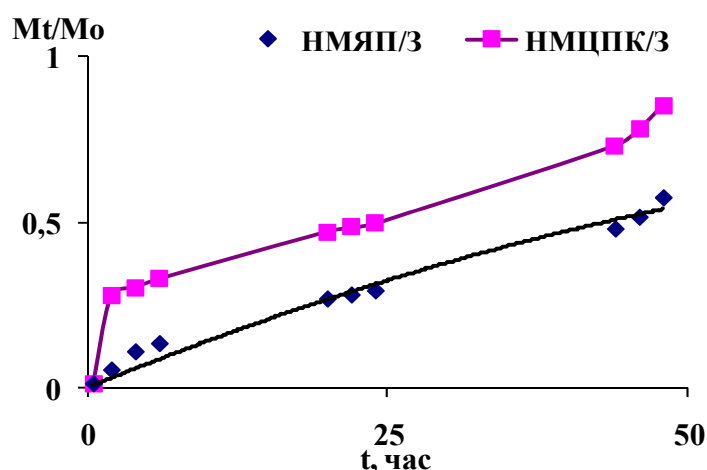
Таблица 4.

Соотношение Зеин/Пектин, количество сухого носителя, доза ЛВ в нем и время высвобождения половины РХ.

Опыт	СДЛ	Соотношение Зеин/Пектин	Количество сухого носителя, мг	Доза РХ в СДЛ, мкг	T <sub>50%</sub> , час
In Vitro	Зеин/ НМЯПШ	1.3	4.90	1000	35.0
Ex Vivo	Зеин/ НМЯПШ	1.3	6.34	1000	48.0
In Vitro	Зеин/ НМЦСПК	1.3	7.20	1000	17.0
Ex Vivo	Зеин/ НМЦСПК	1.3	8.30	1000	36.0

Кинетические кривые, за исключением начального и конечного периода, имеют линейный характер в большом интервале времени (около 40 часов). Как видно, для микросфер на основе цитрусового пектина, они схожи с кривыми, полученными в экспериментах *in vitro*: проявляют начальный «взрывной» эффект переходящий в прямолинейный выход ЛВ. Для микросфер из яблочных пектинов они несколько отличаются от кривых *in vitro*, где выход РХ протекает по кинетике нулевого порядка. В данном эксперименте выход ЛВ замедляется, достигая 50% за 48 часов.

**Рис.8.** Кинетика высвобождения РХ из пектин-зеиновых микросфер на основе яблочного и цитрусового пектинов при инкубации их с содержимым кишечника.



В обоих случаях за 45 часов инкубации, происходит разрушение микросфер, что заметно по резкому выходу ЛВ. Если до этой точки диффузия ЛВ во внешнюю среду происходит за счет релаксации полимерной сетки, вследствие набухания пектина, то ферментативный распад сетки приводит к заметному высвобождению РХ. Разница между выходом ЛВ из микросфер на основе яблочного и цитрусового пектинов объясняется образованием двух типов связи между зеином и пектинами, как было обнаружено турбодиметрическим методом.

Сравнивая время выхода ЛВ в опытах *in vitro* и *ex vivo*, можно наблюдать диффузионный транспорт ЛВ из гидрогелей, вследствие релаксационного механизма полимерной сетки (пектиновые участки), вызванного средой растворителя: если 50% РХ высвобождалось из микросфер на основе зеин/яблочный пектин в опытах *in vitro* за 35 часов, то время выхода РХ в опытах *ex vivo* достигало 48 часов. Для микросфер зеин/цитрусовый пектин оно составило 17 часов *in vitro* и 36 часов *ex vivo*, соответственно. Значительная протяженность во времени, объясняется эффектом набухания ионогенной части полимерной сетки в хорошем (гид-

рофильный - буферный раствор, *in vitro*) и плохом (гидрофобный - смесь буферного раствора и содержимое кишечника, *ex vivo*) растворителях.

Кинетические параметры выхода РХ были рассчитаны по уравнению реакции первого порядка с применением уравнения Хигуши (Higuchi T., 1963):

$$Q = kt^{1/2} \quad (1),$$

где,  $Q$  количество высвободившегося ЛВ,  $k$  - константа и  $t$  - время. Для оценки механизма диффузии ЛВ в дальнейшем, кинетические данные также обрабатывались, используя степенную зависимость кинетики выхода ЛВ по уравнению (3) Пепасс (Peppas N.A., 1987)

Рассчитанные параметры кинетики транспорта РХ из зеин/пектиновых микросфер приведены в табл. 5.

Данные приведенные в табл. 5 показывают, что изученные СДЛ в виде гидрогелевых микросфер имеют близкие значения степени набухания и количество инкапсулированного РХ, но кинетические параметры у них отличаются в зависимости от условий среды эксперимента. В полном соответствии с уравнением Хигуши зависимость количества вышедшего ЛВ из пленок от корня квадратного времени имеет линейный характер.

**Таблица 5**

**Физико-химические характеристики и кинетические параметры зеин/пектин гидрогелевых микросфер в опытах *in vitro* и *ex vivo*.**

Опыт	СДЛ	Содержание РХ в гидрогеле, мг/г	Степень набухания	$K_h$ $10^2$ $ч^{-1/2}$	$R^2$	$n$ , (релиз экспонента)
<i>In Vitro</i>	Зеин/НМЯПШ	204.0	6.70	16.6	0.996	0.56
<i>Ex Vivo</i>	Зеин/НМЯПШ	158.0	7.22	6.00	0.980	0.61
<i>In Vitro</i>	Зеин/НМЦСПК	139.0	16.00	31.0	0.990	0.22
<i>Ex Vivo</i>	Зеин/НМЦСПК	120.0	13.72	4.90	0.986	0.21

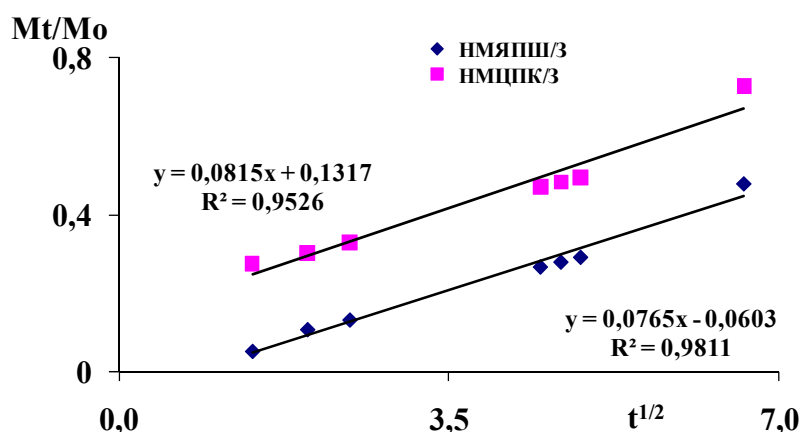
Кинетическая константа у микросфер с яблочным пектином в опытах *ex vivo* составляет  $6.0 \times 10^{-2}/ч^{1/2}$  с коэффициентом корреляции  $R^2=0.9799$ . Это значение в 2.5 раза меньше, чем константа высвобождения РХ в опытах *in vitro* ( $16.6 \times 10^{-2}/ч^{1/2}$ ,  $R^2=0.9864$ ).

В то же время значение константы высвобождения РХ из микросфер, полученных на основе цитрусового пектина, отличаются в 6 раз при переходе от *in vitro* к *ex vivo*. Это указывает на то, что релаксационные процессы в гидрофильной среде буфера для данного пектина интенсивнее и РХ из СДЛ транспортируется быстрее.

Однако значение транспортногo экспонента  $n$  указывает на более сложный механизм процесса диффузии из зеин-пектиновых микросфер. Значение экспонента  $n < 0.22$  для микросфер с цитрусовым пектином указывает на исключительно Фиковский механизм диффузии ЛВ, в то время как значение  $n < 0.5$  для микросфер из яблочного пектина, указывает на влияние аномальных процессов в полимерном матриксе. Учитывая, что фракция зеина в полимерном матриксе имеет гидрофобную природу и РХ связывается в основном с этими участками, то отсут-

ствии влияния среды на релиз параметров вполне можно объяснить амфотерным (дуальным) поведением зеин-пектиновой композиционной сетки.

**Рис. 9.** Зависимость фракции высвободившегося РХ от квадратного корня времени, «кривые Хигучи» для гидрогелевых микросфер на основе яблочного и цитрусового пектинов с зеином в опытах *ex vivo*.

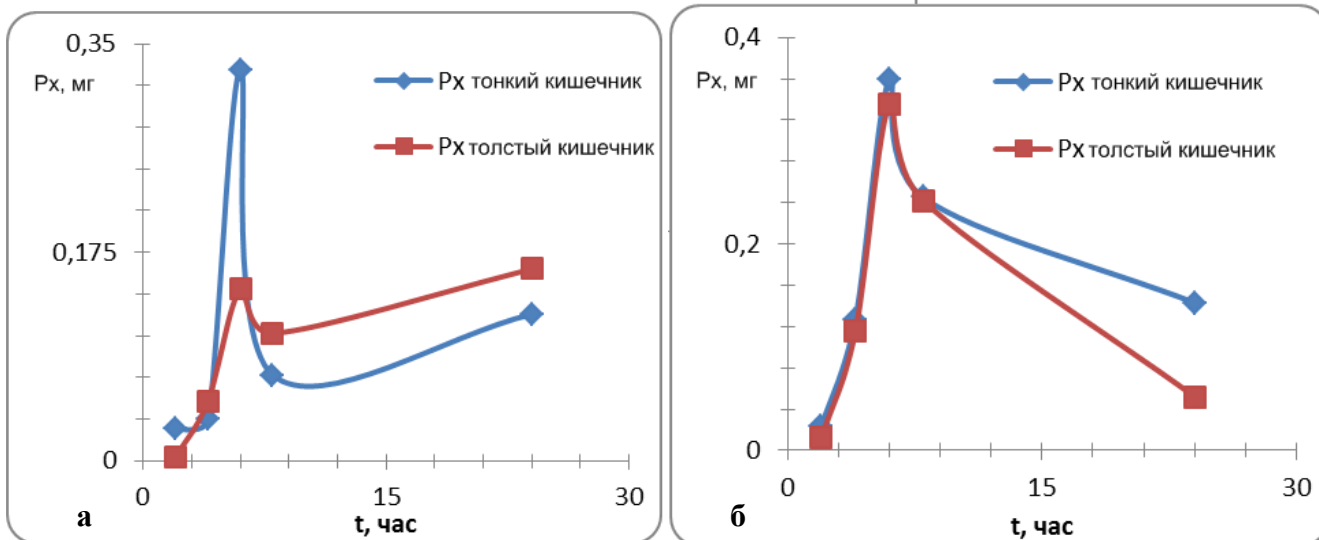


Полученные данные свидетельствуют о том, что лимитирующую роль в процессе высвобождения РХ из гидрогелевых микросфер играет диффузия терапевтического агента в матрице, что подтверждается низкой величиной экспонента в уравнении Пепасса. Столь заметная разница кинетических констант в изученных средах, указывает на то, что полимерная сетка, образованная за счет пектина и зеина, способна реагировать на внешние стимулы, что делает изученные СДЛ привлекательными для транспорта ЛВ в ЖКТ. Кроме того, созданные терапевтические формы на основе биоразрушающихся полимеров, являются альтернативным вариантом для перорального назначения множества ЛВ с ограниченной биодоступностью, снижая побочные эффекты путем уменьшения их дозировки, и при этом создавая массу удобств пациентам в плане дозировки и безопасности ЛВ. Наконец, такая постановка эксперимента облегчает (упрощает) дальнейшее доклиническое и клиническое исследование СДЛ.

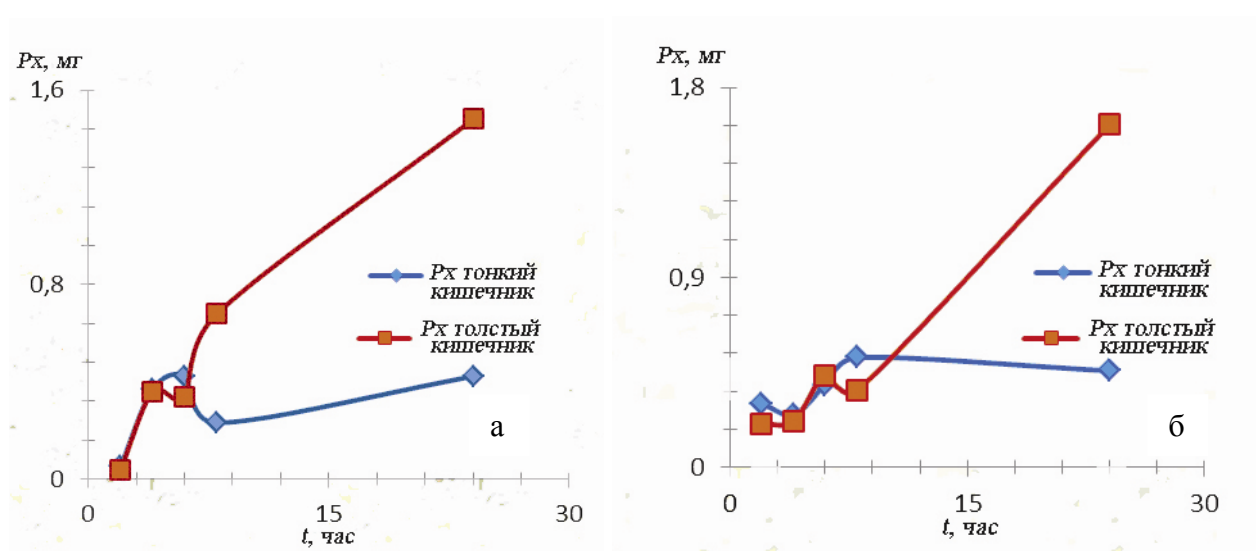
### **Кинетика выхода пироксикама из зеин - пектиновых носителей в опытах *in vivo***

С целью изучения эффективности доставки РХ с помощью СДЛ на основе зеин/пектина, мы проводили эксперименты на 78 белых крысах. Животные получали РХ в свободной форме (контроль), либо инкапсулированный в ЗПМ и гидрогеле в разовой дозе (опытные).

В контрольных группах, РХ перорально вводили в виде водного раствора 1 мг/мл (0,1%). Результаты гастроинтестинальных исследований в контрольной группе (рис. 10) показывают, что пиковая концентрация РХ (0,34мг) наблюдалась через 6 часов после введения в тонком кишечнике, в тоже время, количество ЛВ в толстой кишке было в три раза меньше и составляло 0,145 мг. Время максимального выхода РХ в обоих случаях было одинаково и составило 6 часов. Между тем количество РХ в ЖКТ в обоих случаях, было выше в экспериментах при введении гидрогеля зеин/пектина (рис. 10). Исходя из этих данных, видно, что в свободной форме Рх быстро адсорбируется в ЖКТ, нежели в инкапсулированной форме.



**Рис. 10.** Количество ЛВ, выделяющееся в тонкий и толстый кишечник в период эксперимента: а–контрольная группа; б – опытная, зеин/пектиновый гидрогель (доза пирксикама в обоих случаях составляет 1.0 мг).



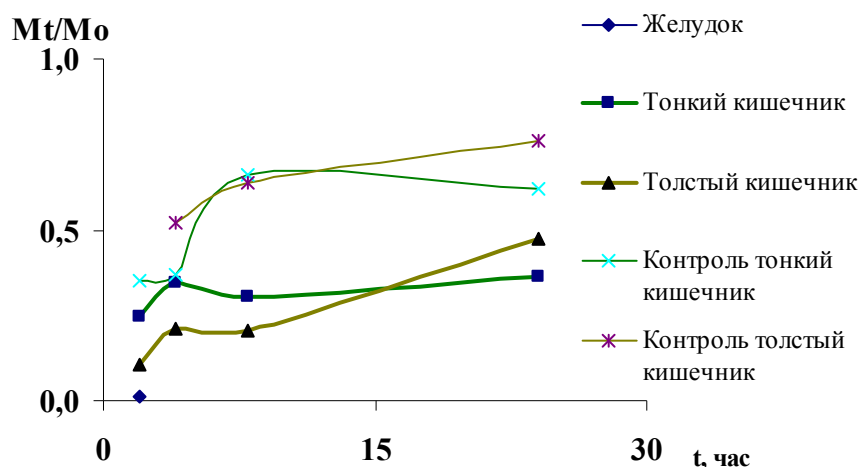
**Рис. 11.** Количество ЛВ, в тонком и толстом кишечнике во время опытов:  
а – гидрогель зеин/пектин, доза РХ 3,16 мг;  
б – гидрогель зеин/пектин, доза РХ 3,52 мг.

Из экспериментальных данных следует, что пик выхода Рх наступает через 6 часов после кормления. При дальнейшем наблюдении количество вышедшего ЛВ постепенно увеличивается в толстом кишечнике в 3.7-3.8 раз.

Кинетика выхода различных форм Рх показана на рис 12. Из анализа профиля выхода Рх в желудке, тонком и толстом кишечнике при сравнения с контрольной группой можно заключить, что кинетика выхода ЛВ из зеин/ЯПШ (в соотношении 1:3) совпадает с данными экспериментов проведенных *ex vivo*. Кривые выхода ЛВ имеют почти линейный профиль через 6 часов после введения, кроме первоначального «взрывного» выхода, который обычно наблюдается у всех СДЛ.

Взрывной эффект четко наблюдается в контроле. Несмотря на малое количество ЛВ, уровень выхода РХ в тонком и толстом кишечнике крыс, получавших суспензию ЛВ, больше, чем его выход из СДЛ на основе зеин-пектина.

**Рис. 12.** Профили выхода РХ: в желудке, тонком и толстом кишечнике крыс получавших РХ в свободной форме и в форме зеин-пектиновых гидрогелевых микросфер.



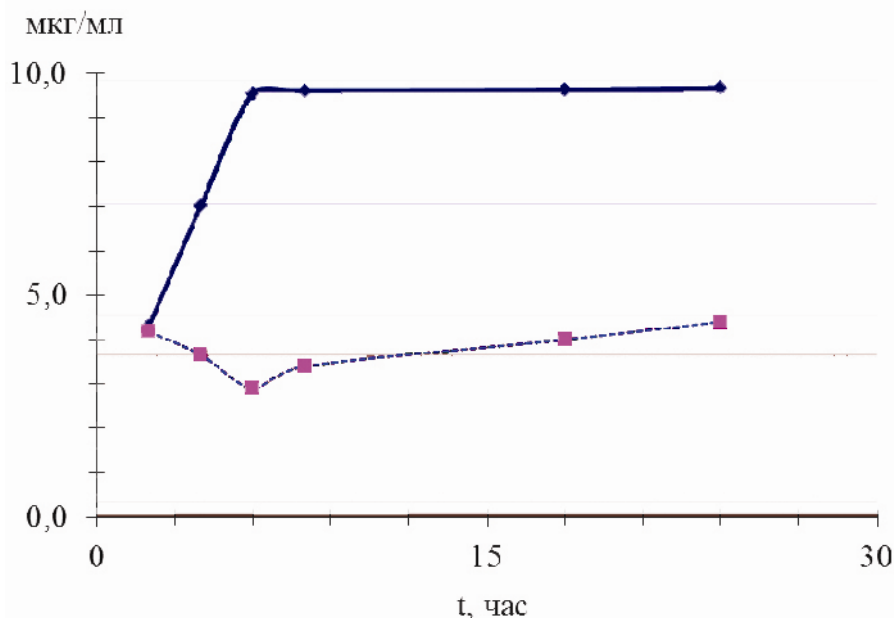
Кинетические кривые выхода ЛВ из СДЛ указывают на протяженный и постоянный выход модельного ЛВ в ЖКТ.

### Исследование концентрации РХ в плазме крови.

Проведенные исследования концентрации РХ в плазме (рис. 13 и 14) показывают, что пик концентрации РХ наступает через 6 часов после введения для обоих исследуемых терапевтических форм.

Максимальная концентрация РХ в плазме крови составляла через 6 часов –  $9,6 \pm 0,5$  мкг/мл и оставалась постоянной 24 часа в течение эксперимента. В тоже время, концентрация РХ в контроле медленно уменьшалась от максимума, определенного в ЖКТ и составляла постоянный уровень около  $4,0 \pm 0,3$  мкг/мл до конца эксперимента. Это указывает, что в это время весь объем введенного РХ в свободной форме, распределяется в ЖКТ и диффундирует в кровообращение через слюну, желудок, тонкий и толстый кишечник. Инкапсулированный РХ начинает выделяться из СДЛ в тонком кишечнике и преимущественно в толстом кишечнике. Таким образом, концентрация введенного Рх в плазме крови, была постоянной в течение длительного периода времени у животных опытной группы.

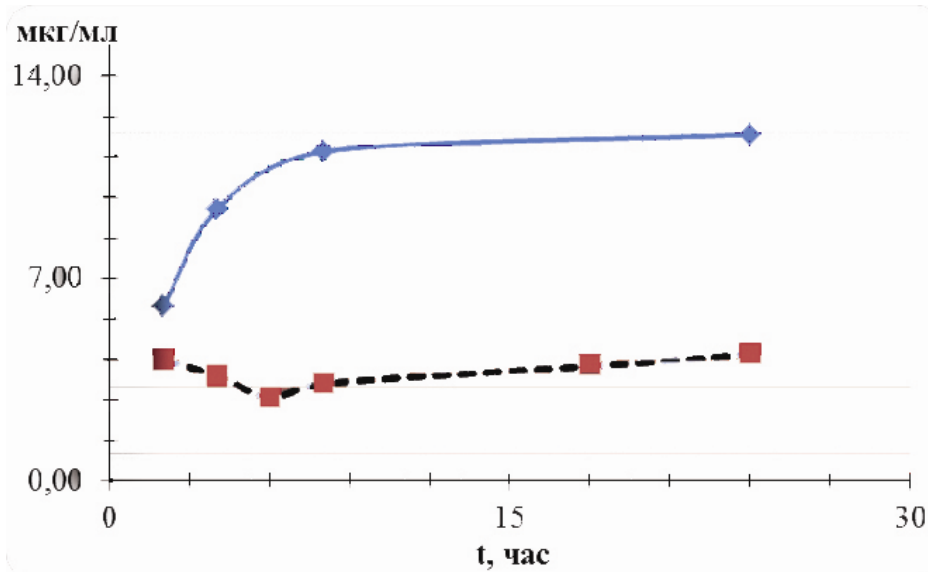
**Рис 13.** Концентрация РХ в плазме: контрольная группа – пунктирная линия (доза пироксикама составляла 1 мг) и крыс, получавших СДЛ – жирная линия (доза пироксикама составляла 1 мг).



У группы животных средняя пиковая

концентрация РХ в плазме была почти такой же. После введения СДЛ, содержащей 1 мг РХ, концентрация в плазме равнялась  $11,5 \pm 0,36$  мкг/мл. Эти значения для обеих терапевтических форм, то есть свободной и инкапсулированной формы, наблюдались в крови в течение 24 часов.

**Рис 14.** Концентрация пироксикама в плазме: контрольная группа – пунктирная линия (доза пироксикама составляла 1 мг) и крыс, получавших СДЛ – жирная линия (доза пироксикама составляла 1 мг).



В литературе показано, что период полувыведения РХ из плазмы бо-

лее 32 ч. Длительность периода полувыведения РХ указывает на то, что в поддержании его относительно стабильной концентрации в плазме, в течение дня, необходимо РХ принимать один раз в сутки, а при многократном приеме, он способен значительно кумулироваться (накапливаться) в организме. При приеме человеком разовой дозы 20 мг, пик концентрации РХ в плазме крови достигает от 1,5 до 2 мкг/мл, в то время как максимальная его концентрация в плазме, после многократных ежедневных приемов по 20 мг пироксикама, стабилизируется на уровне 3-8 мкг / мл.

Результаты экспериментов по определению концентрации РХ в плазме, подтверждаются литературными данными, при приеме препарата в виде таблеток; а его применение в виде СДЛ указывает на устойчивый выход ЛВ и позволяет контролировать принимаемую дозу. Кроме того РХ инкапсулированный в разработанные нами СДЛ, представляет собой новую ЛФ, которая может уменьшить используемую дозу лекарственного вещества и ряд побочных эффектов, возникающих при приеме большого количества препарата. Надо отметить, что разработанные зеин-пектиновые гидрогелевые системы биосовместимы, их адгезивные участки полисахаридной цепи могут являться потенциальными носителями белков, гена и культур клеток. Кроме того, гидрогели могут использоваться в качестве контактных линз и заменителей межтканевых жидкостей в тканевой инженерии. Следовательно, разработанные системы могут быть использованы для длительной и контролируемой дозировки, активных ингредиентов в лечебных и профилактических целях.

## ВЫВОДЫ

1. Впервые разработаны СДЛ на основе гидрогелевых микросфер пектина и зеина, с включением модельного ЛВ и изучена фармакокинетика новых ЛФ

пироксикама с контролируемым высвобождением в опытах *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*.

2. Доказано, что путем изменения соотношений биополимеров изменяется и степень их заполнения ЛВ. Определен механизм процесса его высвобождения из гидрогелевых П/З микросфер, который можно регулировать скоростью диффузии при создании матричных пролонгированных систем с контролируемым высвобождением.
3. Установлено, что лимитирующую роль в процессе высвобождения модельного ЛВ играет диффузия лекарственного агента в матрице, подтверждаемая низкой величиной экспонента в уравнении Пепасса. Заметная разница кинетических констант в опытах *in vitro* и *ex vivo*, указывает на то, что полимерная сетка, образованная за счет пектина и зеина, реагирует на внешние стимулы, делая изученные СДЛ привлекательными для транспорта ЛВ в ЖКТ.
4. Определено, что исследованный биополимерный комплекс при внутрижелудочном введении по параметрам острой токсичности относится к малотоксичным веществам и при ежедневном нанесении на кожу в течение 7 дней не проявляет раздражающего действия.
5. Фармакокинетика новых терапевтических форм пироксикама в сравнении с традиционными ЛФ показали, что разработанные СДЛ обладают рядом преимуществ: способствуют максимальному прохождению ЛВ через верхний отдел ЖКТ, уменьшая дозировку ЛВ и усиливая биодоступность препарата путем его контролируемого высвобождения в кишечнике и пролонгируя его концентрацию в крови длительное время.
6. Экспериментально было определено, что полученные биополимерные комплексы деградируются только в кишечнике, что, несомненно, предоставляет потенциальную возможность для широкого их клинического применения для доставки ЛВ чувствительных к ферментам и кислой среде ЖКТ.

### **Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:**

1. Muhidinov Z.K., Bobokalonov J.T., Liu L.S., and Fassihi R. A Kinetic Study of Poor Water Soluble Drug Released from Pectin Microcapsules Using Diffusion/Dissolution Model.// ACS Symposium series No. 992 New Delivery Systems for Controlled Drug Release from Naturally Occurring Materials. -2008.- Chapter 11, -p. 193-208.
2. Касымова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т., Халикова М.Д., Мухиддинов З.К., Куканиев М.А. Выделение и характеристика зеина кукурузы, произрастающей в Таджикистане // Изв. АН РТ. отд. физ-мат, хим. и геол. наук. –2007. –2(127), –С. 42-50.
3. Muhidinov Z.K., Bobokalonov J.T., Akhmedov M.A., Khalikov D.Kh. Stepwise dia-ultrafiltration system in the processing of pectin by products // Proceeding of CRE XI-Green Chemical Reactor Engineering Conferences. - Bilbao, Spain: August 2007. - P. 93.

4. Muhidinov Z.K., Bobokalonov J.T., LinShu Liu, and Reza Fassihi. A Kinetic Study of Poor Water Soluble Drug Released from Pectin Microcapsules Using Diffusion/Dissolution Model // Drug Design and development, ISTC International Expert meeting. - Moscow, Russia: December, 2007. - P. 22.
5. Мухидинов З.К., Касымова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т., Халикова М.Д., Джулиева Г., Liu LinShu. Кинетика высвобождения модельного лекарства-пироксикама из комплексов полученных на основе пектина и зеина // Материалы 6 Нумановских чтений. - Душанбе: 29-30 Мая 2009. - С. 102-104.
6. Мухидинов З.К., Касымова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т., Халикова М.Д., Тешаев Х.И., Халиков Д.Х. Носители лекарственных препаратов на основе биополимеров // Материалы 6 Нумановских чтений. - Душанбе: 29-30 Мая 2009. - С. 104-106.
7. Мухидинов З.К., Бобокалонов Д.Т., Халикова М.Д., Рахимов И.Ф., Ходжаева Ф.М., Лин-Шу Лиу, Хайдаров К.Х. Скрининг носителей лекарственных веществ на основе пектин-протеиновых гелей и микрокапсул в опытах *in vivo* на белых крысах // Докл. АН РТ. - 2009. – Т. 52 (№5). - С. 386-390..
8. Мухидинов З.К., Г.Ф. Касымова, Бобокалонов Д.Т., Х.И.Тешаев, Халиков Д.Х., Л.Ш. Лиу. Гидрогелиевые композиции на основе пектина и зеина, как носители лекарственных веществ // Пятая Всероссийская Каргинская конференция «Полимеры-2010». - Москва: 21-25 июня 2010. - С. 29.
9. Мухидинов З.К., Касымова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т., Халиков Д.Х., Тешаев Х.И., Халикова М.Д., Лин-Шу Лиу. Пектин-зеиновые микросферы как носители лекарственных средств // Химико – Фармацевтический журнал. – 2010.- Т. 44, №10. –С. 35-39.
10. Касымова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т., Мухидинов З.К. и др. Кинетика высвобождения рифампицина из микрокапсул на основе пектина с  $\beta$ -лактоглобулином, в опытах *in vitro*.// Фармация Казахстан. - 2010, -№6, -ст 17-19.
- 11.Халикова М.Д., Саидов А.А., Бобокалонов Д.Т., Мухиддинов З.К. Фармакологическое изучение биологической активности новых комплексов пектина. // Материалы 6 Нумановских чтений. –Душанбе: 29-30 мая 2009. –С. 45-47.
- 12.Мухидинов З.К., Касымова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т., Насриддинов А.С., Халиков Д.Х., Тешаев Х.И., Лин-Шу Лиу. Гидрогелевые микросферы на основе биоразрушающих полимеров, как носители лекарственных средств // Известия АН РТ отделение физико-математических, химических, геологических и технических наук. - 2009. - №1 (134). - С. 59-65.
- 13.Бобокалонов Д.Т., Мухидинов З.К., Рахимов И.Ф., Ходжаева Ф.М., Касымова Г.Ф., LSLiu. Кинетика выхода пироксикама из зеин - пектиновых носителей в опытах *ex vivo* // Материалы международной научно-практической конференции "Фармация: современное состояние, достижения и перспективы" посвященной 80-летию КазмНМУ имени С.Д. Асфендиярова. - Алматы: 2011. - С. 30-32.
- 14.Мухидинов З.К., Касымова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т. и др. Кинетика высвобождения пироксикама из гидрогелей низкометилированного цитрусового пектина и зеина // Хим.-фарм.журн. –2011. находится в печати.



Сдано в печать 24.08.2011 г. Разрешено к печати 25.08.2011 г.  
Формат 60x84<sup>1/16</sup> Гарнитура Times New Roman. Объем 1,25 л.  
Бумага офсетная. Печать офсетная  
Заказ № 2204/85. Тираж 100 экз.

---

Типография ТГМУ им. Абуали ибни Сино  
734003 г. Душанбе, пр-т Рудаки 139