

УДК 615.451

3.4.1 Промышленная фармация и технология получения лекарств

DOI: 10.37903/vsgma.2023.3.21 EDN: HXWGM1

**БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ РАЗРАБОТКЕ СОСТАВА
ТРАНСДЕРМАЛЬНОГО ГЕЛЯ С ХОЛИНА АЛЬФОСЦЕРАТОМ**© Тюнина Е.Д.¹, Лосенкова С.О.²¹ООО «Озон», Россия, 445351, Самарская область, Жигулёвск, ул. Песочная, 11²Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*Резюме*

Цель. Сконструировать композиции трансдермального геля двух составов с холина альфосцератом на основе карбомера Ultrez 10 согласно технологической схеме производства гелей, разработать методику биофармацевтического метода исследования трансдермальных гелей с холина альфосцератом, проведены биофармацевтические исследования 4% гелевых составов методом диализа *in vitro*.

Методика. С целью разработки состава трансдермального геля с нейтропротектором холина альфосцератом авторами разработана методика биофармацевтического метода диализа *in vitro* сконструированных гелевых композиций (диализная среда – изотонический раствор натрия хлорида, температура – $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, с конвекцией диализной среды и ее возвратом). Гелевые композиции изготавливали в условиях лаборатории предприятия-производителя ЛС ООО «Озон» (г. Жигулевск) по разработанной авторами технологической схеме производства гелей. Для определения количественного содержания холина альфосцерата в пробах диализата использован валидированный метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Отбор проб диализата осуществляли в течение 48 часов эксперимента. Определяли количество высвободившегося ЛС и степень его высвобождения. Полученные результаты подвергли статистической обработке с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты. Проанализированы литературные и собственные экспериментальные данные совместимости ингредиентов, сконструированы составы 4% гелевых композиций с холина альфосцератом с целью создания трансдермальной лекарственной формы (ЛФ). По результатам биофармацевтического исследования методом диализа *in vitro* максимальную степень высвобождения холина альфосцерата наблюдали из 4% гелевого состава №1 через 48 часов эксперимента (23,68%). Из 4% гелевого состава №2 степень высвобождения была максимальной через 6 часов эксперимента (15,64%). Однократное (1 раз в день) нанесение геля с холина альфосцератом состава №1 массой 1,0 грамм на диализную пленку обеспечивало через 24 часа эксперимента высвобождение холина альфосцерата 20,75%. Построены кинетические кривые высвобождения ЛС, наглядно моделирующие характер высвобождения ЛС из трансдермальных гелей двух составов.

Заключение. Гелевая основа Карбомер Ultrez 10 обеспечивает равномерное и длительное пролонгированное высвобождение холина альфосцерата на протяжении 48 часов эксперимента (период наблюдения) из состава №1 (состав №1: гелеобразователь карбомер Ultrez 10, 1М раствор натрия гидроксида, нипагин, вода очищенная).

Ключевые слова: трансдермальный гель, холина альфосцерат, ВЭЖХ, метод диализа

**BIOPHARMACEUTICAL RESEARCH IN THE DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION
OF A TRANSDERMAL GEL WITH CHOLINE ALFOSCERATE**Tyunina E.D.¹, Losenkova S.O.²¹Ozon LLC, Pesochnaya St., 11, 445351, Zhigulevsk, Russia²Smolensk State Medical University, Krupskaya St., 28, 214019, Smolensk, Russia*Abstract*

Objective. Compositions of a transdermal gel of two formulations with choline alfoscerate based on Ultrez 10 carbomer have been constructed according to the technological scheme for the production of gels, a method of biopharmaceutical method for studying transdermal gels with choline alfoscerate has

been developed, biopharmaceutical studies of 4% of gel formulations have been carried out by in vitro dialysis.

Methods. In order to develop the composition of a transdermal gel with the neuroprotector choline alfoscerate, the authors developed a method of biopharmaceutical dialysis in vitro of constructed gel compositions (dialysis medium – isotonic sodium chloride solution, temperature – $37\pm 0.5^\circ\text{C}$, with convection of the dialysis medium and its return). Gel compositions were made in the laboratory of the drug manufacturer Ozon LLC (Zhigulevsk) according to the technological scheme for the production of gels developed by the authors. To determine the quantitative content of choline alfoscerate in dialysate samples, a validated method of high-performance liquid chromatography (HPLC) was used. Dialysate sampling was carried out within 48 hours of the experiment. The amount of drugs released and the degree of its release were determined. The results were subjected to statistical processing using Microsoft Excel.

Results. Literature and own experimental data on the compatibility of ingredients were analyzed, compositions of 4% gel compositions with choline alfoscerate were constructed in order to create a transdermal dosage form (LF). According to the results of a biopharmaceutical study by in vitro dialysis, the maximum degree of release of choline alfoscerate was observed from 4% of gel composition No. 1 after 48 hours of the experiment (23.68%). Of the 4% gel composition No. 2, the degree of release was maximum after 6 hours of the experiment (15.64%). A single (1 time per day) application of a gel with choline alfoscerate of composition No 1 weighing 1.0 grams on a dialysis film provided a 20.75% release of choline alfoscerate after 24 hours of the experiment. Kinetic curves of drug release are constructed, which clearly simulate the nature of drug release from transdermal gels of two compositions.

Conclusion. Gel base Carbomer Ultrez 10 provides a uniform and prolonged prolonged release of choline alfoscerate during 48 hours of the experiment (observation period) from composition N1 (composition N1: gelling agent carbomer Ultrez 10, 1M sodium hydroxide solution, nipagin, purified water).

Keywords: transdermal gel, choline alfoscerate, high-performance liquid chromatography method, dialysis method

Введение

В настоящее время, в связи с активным темпом жизни современного человека, все больше возрастает нагрузка на мозговую деятельность. Увеличивается ряд факторов, среди которых важнейшими являются напряженный ритм жизни, сопутствующие ему стрессовые ситуации. Увеличивается объем информации, которую нужно переработать и запомнить, возрастает нагрузка на нервную систему. Из этого следует, что возрастает потребность в лекарственных препаратах, которые при минимуме побочных эффектов оказывают значительное положительное влияние на память, процессы восприятия, мышления, улучшают умственную деятельность, облегчают обучение. К таким лекарственным препаратам относятся нейропротекторы.

Холина альфосцерат является центральным холиностимулятором, в составе которого содержится 40,5% метаболитически защищенного холина. Метаболическая защита способствует выделению холина в головном мозге. Обеспечивает синтез ацетилхолина и фосфатидилхолина в нейрональных мембранах, улучшает кровоток и усиливает метаболические процессы в центральной нервной системе, активирует ретикулярную формацию. Увеличивает линейную скорость кровотока на стороне травматического поражения мозга, способствует нормализации пространственно-временных характеристик спонтанной биоэлектрической активности мозга, регрессу очаговых неврологических симптомов и восстановлению сознания; оказывает положительное влияние на познавательные и поведенческие реакции больных с сосудистыми заболеваниями головного мозга (дисциркуляторной энцефалопатией и остаточными явлениями нарушения мозгового кровообращения).

Оказывает профилактическое и корригирующее действие на патогенетические факторы инволюционного психоорганического синдрома, изменяет фосфолипидный состав мембран нейронов и снижает холинергическую активность. Стимулирует дозозависимое выделение ацетилхолина в физиологических условиях; участвуя в синтезе фосфатидилхолина (мембранного фосфолипида), улучшает синаптическую передачу, пластичность нейрональных мембран, функцию рецепторов.

Нейропротекторные препараты способны улучшать когнитивные (познавательные) функции как у здоровых людей, так и, в особенности, нарушенные при различных заболеваниях. Такие препараты крайне необходимы людям, перенесшим в недавнем прошлом инсульт, поражения

мозга дегенеративного характера из-за хронической формы алкоголизма, различные мозговые травмы, детям с задержкой развития.

В настоящее время адресная доставка лекарственных средств выходит на первый план как одна из наиболее успешно развивающихся областей медицинской науки и технологий. При инъекционном внутривенном введении ЛС поступают непосредственно в кровоток, при этом практически сразу же достигается максимальная концентрация ЛС в крови и, как следствие, максимальный терапевтический эффект, что не всегда является оптимальным и рациональным, особенно, если речь идет о введении сильнодействующих ЛП, а также препаратов, предназначенных для длительного лечения хронических заболеваний.

Способ трансдермального введения (доставки) ЛП по скорости наступления терапевтического эффекта сопоставим с внутримышечным введением ЛС, но при этом концентрация ЛС длительное время (в течение 1-3 суток) поддерживается на среднем или минимальном терапевтическом уровне, достаточном для обеспечения длительного терапевтического эффекта. При применении трансдермальных лекарственных форм (ЛФ) (гелей, трансдермальных пластырей, трансдермальных терапевтических систем) повышается комплаентность пациентов к проводимой лекарственной терапии, так как у пациента возникает возможность снижения кратности введения ЛП до 1-2 раз в сутки, обеспечения введения ЛП без наличия медицинского персонала в амбулаторных условиях, при этом трансдермальный способ введения не сопровождается нарушением целостности кожных покровов [7]. Все это определяет выбор трансдермальных форм адресной доставки ЛП в качестве средств для длительного лечения хронических заболеваний.

Современные идеи технологического характера по созданию трансдермальных ЛФ сформулированы в работах Мизиной П.Г., Быкова В.А. Исследуя вопросы создания ТДТС с фенилпропаноидами Мизина П.Г., Быков В.А. предлагают критерии для их стандартизации и подробно описывают методики для их воспроизведения. Степанова Э.Ф. и Андреева И.Н. в своих работах дают общую характеристику тЛФ в целом, как системам чрескожного транспорта, указывая на их преимущества. В области разработки технологии трансдермальных лекарственных форм также Краснюк И.И., Морозов Ю.А., Равикумар С., Максименко О.О., Васильев А.Е., Тохмахчи В.И., Литвин А.А. [4, 6, 8, 9].

Холина альфосцерат (2-{{(2R)(2,3-дигидроксипропокси) гидроксифосфинил} окси}- N,N,N-триметилэтиламина гидроксид, внутренняя соль, полигидрат представляет собой вязкую прозрачную, бесцветную или слегка окрашенную жидкость (субстанция-жидкость), допускается наличие кристаллов [10]. Очень легко растворим в воде, легко растворим в 96% спирте этиловом. Значение рН 25% водного раствора должен быть от 5,0 до 7,0. Является носителем холина (40,5%) и предшественником фосфотидилхолина. Обладает нейропротективным и ноотропным действием, обеспечивая высвобождение холина в тканях головного мозга. Зарегистрирован в форме раствора для внутривенного и внутримышечного введения 250 мг/мл (ампулы по 4мл), а также раствора для инфузий и внутримышечного введения 1000 мг/3мл, раствора для приема внутрь 600мг/7мл во флаконах, капсул 400 мг.

Цель исследования – сконструировать композиции трансдермального геля двух составов с холина альфосцератом на основе карбомера Ultrez 10 согласно технологической схеме производства гелей, разработать методику биофармацевтического метода исследования трансдермальных гелей с холина альфосцератом, проведены биофармацевтические исследования 4% гелевых составов методом диализа *in vitro*.

Методика

С учетом данных литературы авторами предложены и сконструированы составы гелевых композиций с холина альфосцератом с целью создания на его основе трансдермальной лекарственной формы [1, 5]. Разработанные составы гелей представлены в табл. 1.

Гели изготавливали в условиях предприятия-производителя ЛС ООО «Озон» (г. Жигулевск) по разработанной авторами технологической схеме производства гелей, учитывая физико-химические свойства всех его компонентов [3]. Лабораторная технология геля с холина альфосцератом включала в себя процесс изготовления гелевой основы с последующим введением в ее состав лекарственного средства, гомогенизации гелевой композиции, упаковку и маркировку. Изготовление составов проводили в условиях научно-исследовательской лаборатории предприятия ООО «Озон» (г. Жигулевск). Гелевые композиции двух составов представляли собой гелеобразные массы бесцветные, прозрачные со слабым характерным запахом со значением рН от

5,0 до 6,5 [3]. Упаковку гелевых композиций массой 10 грамм осуществляли в алюминиевые тубы (производства АО «Тубекс»).

Таблица 1. Составы образцов геля холина альфосцерата

Компоненты, г	Составы гелевых композиций	
	Состав №1	Состав №2
Холина альфосцерат (производство ООО «БИОН», Россия)	+	+
Карбомер Ultrez 10 (производство «Лубризол Эдвэнсэд Мэтериэлс, Инк., США)	+	+
Метилпарагидроксибензоат (производство Уено фэйн Кемикалз Индастри, Лтд, Япония)	+	
1 М р-р гидроксида натрия (производство АО «БСК», Россия)	+	
Троламин (производство ООО «Синтез ОКА», Россия)		+
Бензалкония хлорид (производство Юнилаб Кемикалс энд Фармасьютикалс Пвт. Лтд., Индия)		+
Вода очищенная	+	+

Для определения характера и степени высвобождения холина альфосцерата из трансдермального геля разработан и использовали метод диализа *in vitro* через диализную пленку марки «Купрофан» [2]. На внутреннюю поверхность мембраны равномерным слоем наносили навеску исследуемого образца 4% геля массой 1,0 грамм, равномерно распределяя гель по поверхности диализной пленки площадью 4см². Мембрану с гелем неподвижно закрепляли на конце диализной трубки. Диализную трубку вносили в химический стакан с диализной средой и погружали на глубину 1-2 мм. В качестве среды для диализа использовали изотонический раствор натрия хлорида (50,0 мл). Процесс диализа проводили при температуре 37±0,5°С. Отбор проб диализата (1,0 мл) осуществляли через 30 мин., 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 48 ч. эксперимента, с немедленным возвращением в диализат взятого объема растворителя (с конвекцией диализной среды на магнитной мешалке). Для оценки количественного содержания холина альфосцерата в пробе диализата использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для этого 1,0 мл отобранной пробы диализата вводили в хроматографическую колонку марки Kromasil 100-5-NH₂ (AkzoNobel) хроматографа Waters Alliance [10].

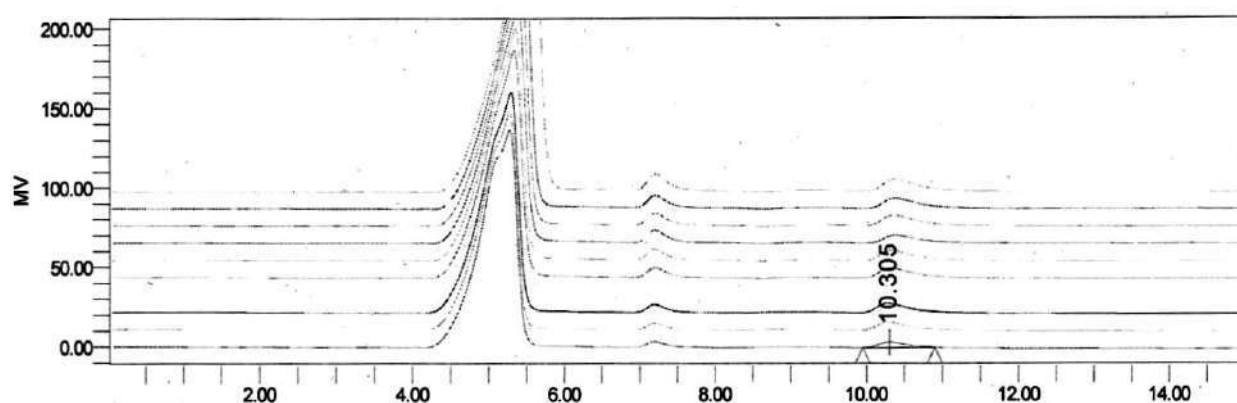


Рис. 1. Хроматограмма метода количественного определения содержания холина альфосцерата (состав 1) в пробах диализата через 30 мин., 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 48 ч. эксперимента

Для определения количественного содержания холина альфосцерата в пробе с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии использовали формулу:

$$X = \frac{S * a_0 * V_{\text{общ}} * P * (100 - w)}{S_0 * a * V * 100 * 20}$$

где S_0 – площадь пика стандартного образца; S – площадь пика образца; a_0 – навеска стандартного образца, г; P – количественное содержание в стандартном образце холина альфосцерата, %; w – влагосодержание в стандартном образце холина альфосцерата, %; a – навеска а геля, г; $V_{\text{общ}}$ – объем диализата, мл; V – объем, взятый для анализа, мл. Полученные результаты обрабатывали с использованием программы для статистической обработки данных Excel.

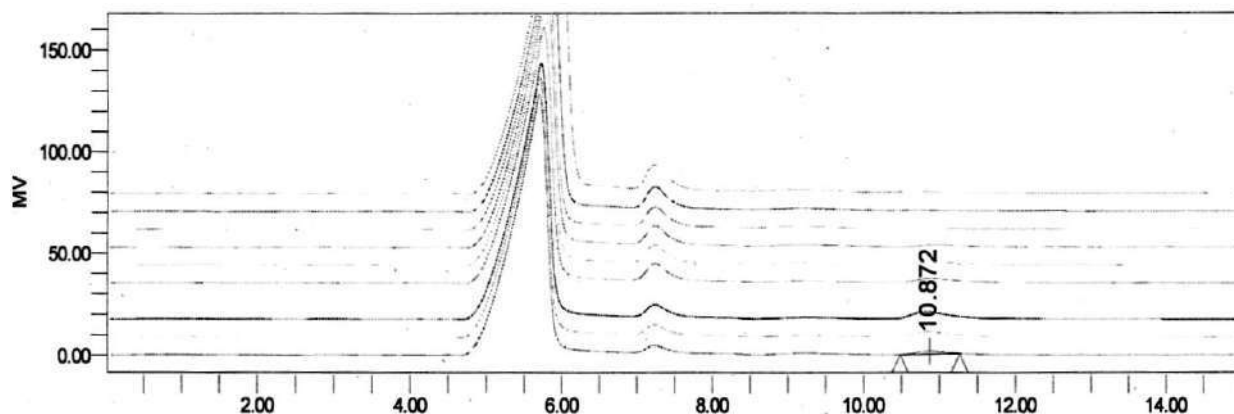


Рис. 2. Хроматограмма метода количественного определения содержания холина альфосцерата (состав 2) в пробах диализата через 30 минут, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 48 часов эксперимента

Результаты исследования и их обсуждение

С использованием биофармацевтического метода диализа *in vitro* определяли количество и степень высвобождения холина альфосцерата из 4% гелевых композиций двух составов с использованием метода ВЭЖХ. На основании полученных результатов хроматографического анализа количественного содержания холина альфосцерата в пробах диализата (рис.1-2, табл. 2) строили кинетические кривые высвобождения холина альфосцерата из 4% гелевых композиций с целью исследования характера высвобождения ЛС (рис. 3).

Таблица 2. Результаты биофармацевтического исследования методом диализа *in vitro* степени высвобождения холина альфосцерата из гелевых композиций

Время наблюдения (отбора проб)	Степень высвобождения холина альфосцерата, %	
	Состав №1	Состав №2
30 минут	9,06±0,24	4,72±0,27
1 час	13,94±0,21	8,08±0,41
2 часа	17,79±0,23	12,05±0,51
4 часа	18,79±0,22	14,48±0,23
6 часов	19,35±0,14	15,64±0,11
8 часов	18,71±0,45	13,60±0,53
12 часов	14,53±0,11	13,76±0,42
18 часов	20,65±0,34	12,62±0,63
24 часа	20,75±0,57	8,31±0,41
48 часов	23,68±0,82	3,69±0,17

По результатам биофармацевтического исследования методом диализа, максимальная степень высвобождения холина альфосцерата наблюдалась из 4% гелевого состава №1 через 48 ч. эксперимента (23,68%). Из 4% гелевого состава №2 степень высвобождения была максимальной через 6 ч. эксперимента (15,64%). Таким образом, однократное (1 раз в день) применение геля с холина альфосцератом (состав №1) массой 1,0 грамм с площадью распределения геля на коже 4 см.кв. обеспечивает степень высвобождения холина альфосцерата 20,75%. Далее на основании полученных данных были построены кинетические кривые высвобождения холина альфосцерата (мкг/время) из двух гелевых композиций.

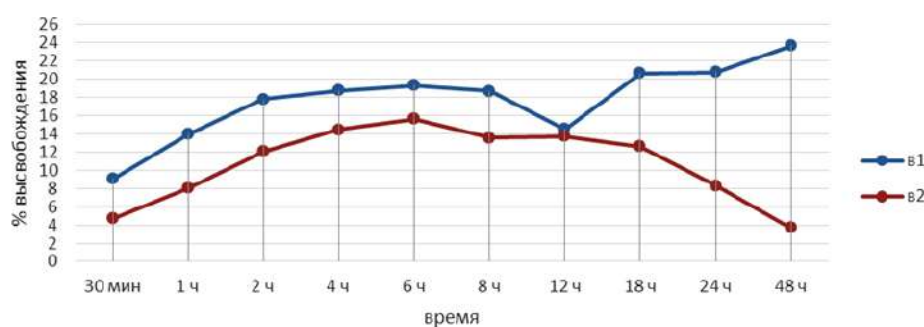


Рис. 3. Кинетические кривые высвобождения холина альфосцерата из 4% трансдермальных гелей состава № 1 и состава № 2

Как следует из рисунка, 3,4% гидрогель на основе Карбомера Ultrez 10 состава № 1 обеспечивает более равномерное и пролонгированное высвобождение холина альфосцерата на протяжении 48 часов эксперимента (период наблюдения).

Высвобождение холина альфосцерата из трансдермального геля состава № 2 наблюдалось в течение первых 6 ч. эксперимента и достигло своего максимального значения к этому времени – $15,64 \pm 0,11$. В последующем наблюдалось постепенное снижение концентрации высвобождающегося холина альфосцерата из состава № 2.

Заключение

Согласно литературным данным гелеобразователь Карбомер Ultrez 10 обеспечивают оптимальные структурно-реологические свойства гелей даже при низких концентрациях гелеобразователя, микробиологическую устойчивость, стабильность при хранении, совместимость с активными веществами, гипоаллергенность, легкость нанесения и удаления с поверхности слизистой и кожи [1, 5]. По результатам биофармацевтического исследования методом диализа *in vitro* из состава №1 через 24 часа эксперимента высвобождается $20,75 \pm 0,57\%$ холина альфосцерата, при этом максимальная степень высвобождения холина альфосцерата наблюдалась из гелевой композиции №1 через 48 часов эксперимента ($23,68 \pm 0,82\%$). Из состава №2 максимальная степень высвобождения составила всего $15,64 \pm 0,11\%$ через 6 часов эксперимента. Исходя из результатов проведенного исследования гелевая основа Карбомер Ultrez 10 (состав №1) обеспечивает равномерное и длительное (пролонгированное) высвобождение холина альфосцерата на протяжении 48 часов эксперимента (период наблюдения).

Литература (references)

1. Алексеев К.В., Грицкова И.А., Кедик С.А. Полимеры для фармацевтической технологии / под ред. С.А.Кедика. – Москва: САРМА, 2011. – 511 с. [Alekseev K.V., Grickova I.A., Kedik S.A. *Polimeri dlja farmacevteskoj tehnologii*. Polymers for pharmaceutical technology / ed by S.A. Kedika. – Moscow: SARMA, 2011. – 511 p. (in Russian)]
2. Гладкая Ю.В., Лосенкова С.О. Биофармацевтическое исследование степени высвобождения 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината из интраназального геля методом диализа // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2018. – Т.17, N4. – С. 165-170. [Gladkaja U.V., Losenkova S.O. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk state medical Academy. – 2018. – V.17, N4. – P. 165-170. (in Russian)]
3. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. ОФС 1.4.1.0008.18 «Мази». – М.: Медицина, Т.2. – 2018. – С. 1893-1901. [Gosudarstvennaja Farmakopeja Rossijskoj Federacii XIV izdanija OFS «Mazi». State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV ed. General Pharmacopoeia Article.1.4.1.0008.18 Ointment. – M.: Medicine. – V.2. – 2018. – P. 1893-1901. (in Russian)]
4. Литвин А.А. Экспериментальная фармакокинетика феназепам при применении трансдермальной терапевтической системы фенаперкутена // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004,

- Т.67. – N2. – С. 59-62 [*Experimentalnaja i kliničeskaja farmakologija*. Experimental and clinical pharmacology. – 2004. – V.67, N2. – P. 59-62. (in Russian)]
5. Лосенкова С.О., Степанова Э.Ф. Вспомогательные вещества в технологии чрезкожных систем доставки лекарственных средств // Учебное пособие – Смоленск, Смоленский государственный медицинский университет. – 2009. – 78 с. [Losenkova S.O., Stepanova E.F.
 6. *Vspomogatel'nye veshchestva v tekhnologii chrezkoznyh sistem dostavki lekarstvennyh sredstv*. Auxiliary substances in the technology of percutaneous drug delivery systems: Study Guide - Smolensk, Smolensk State Medical University. – 2009. – 78 p. (in Russian)]
 7. Лосенкова С.О. Исследование перспективности отечественных научных разработок в области фармацевтической технологии // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.19, N4. – С. 134-146. [Losenkova S.O. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk state medical Academy. – 2020. – V.19, N4. – P. 134-146. (in Russian)]
 8. Лосенкова С.О., Тюнина Е.Д., Лосенков П.В. и др. Современный ассортимент трансдермальных лекарственных форм на фармацевтическом рынке России // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т.21, N1. – С. 152-159. [Losenkova S.O., Tyunina E.D., Losenkov P.V. i dr. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk state medical Academy. – 2022. – V.21, N1. – P. 152-159. (in Russian)]
 9. Мизина П.Г., Быков В.А., Настина Ю.И. и др. Введение лекарственных веществ через кожу – достижения и перспективы (обзор) // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2004. - N1. – С.176-183 [*Vestnik VGU. Serija: Chimija. Biologija. Farmacija*. Bulletin of the VGU. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2004. – N1. – P. 176-183. (in Russian)]
 10. Морозов Ю.А. Конструирование и биофармацевтические исследования трансдермального пластыря гиполипидемического действия с дипромонием // Фундаментальные исследования. – 2006. – N10. – С. 88-90. [Morozov U.A. *Fundamental'nye issledovanija*. Basic researches. – 2006. – N10. – P. 88-90. (in Russian)]
 11. Нормативная документация «Холина альфосцерат, раствор для внутривенного и внутримышечного введения 250мг/мл» ООО «Озон» Россия (ЛП-003816-160720) [*Normativnaja dokumentacija «Cholina alfoscerat, rastvor dlja vnutrivennogo i vnutrimichechnogo vvedenija 250 mg/ml»*. Normative documentation "Choline alfoscerate solution for intravenous and intramuscular administration 250 mg/ml» Ozon Russija.

Информация об авторах

Тюнина Елизавета Диментьевна – преподаватель кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, главный технолог по стерильным лекарственным средствам ООО «Озон». E-mail: ted.90@mail.ru

Лосенкова Светлана Олеговна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: losenkova-so@mail.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.04.2023

Принята к печати 28.09.2023