

УДК 615.453:678.664:611.018+615.375:615.281.8/.9+615.015.14

© 2007

Л. М. Мазур, Р. А. Рожнова, Н. А. Галатенко, Л. Ю. Нечаєва

Вивчення динаміки вивільнення протизапального препарату амізону з полімерної лікарської форми на основі гідрофільного блок-кополіуретану, який містить кополімер N-вінілпіролідону з вініловим спиртом

(Представлено академіком НАН України Є. В. Лебедєвим)

The amizonum release kinetics from polyurethane compositions into a physiological solution has been studied in vitro. The introduction of the copolymer of N-vinylpyrrolidone and vinyl alcohol in the structure of the polymeric carrier to cause the more complete yield of a medicinal substance has been shown. The biocompatibility of the obtained polymeric drug form has been investigated by the tissue culture method.

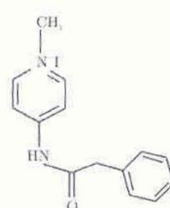
Медицина практика потребує нових полімерних матеріалів з лікарською дією у вигляді плівкових еластомерів, які б могли використовуватись як оболонки гідрофільних імплантатів або за іншим призначенням як імплантаційний матеріал. Відомо [1], що на вивільнення лікарської речовини (ЛР) з полімерних композицій впливає хімічна природа полімеру та ЛР, їх фізико-хімічні властивості, зокрема гідрофільність. Важливими факторами, які впливають на швидкість та довгостроковість вивільнення ЛР з плівок, є швидкість та ступінь їх набухання. Залежно від цих параметрів, вмісту в них води змінюються умови дифузії, швидкість та відповідно строк вивільнення ЛР з плівок та надходження її в орган-мішень в необхідних дозах.

Завдяки біосумісності та фізико-хімічним і фізико-механічним властивостям, поліуретани (ПУ) є потенційним матеріалом для медичного використання, в тому числі як носії лікарських речовин. Експериментальні результати [2–4] свідчать, що підвищення гідрофільності ПУ приводить до пролонгованого збільшення кількості вивільненої ЛР. Тому для створення плівкових полімерних матеріалів з лікувальною дією були розроблені поліуретанові композиції, які містять кополімер N-вінілпіролідону з вініловим спиртом (ВП-ВС) та іммобілізований лікарський препарат, здатні пролонговано вивільняти ЛР до оточуючого водного середовища.

Метою даної роботи є вивчення динаміки виходу амізону *in vitro* з поліуретанового носія, який модифіковано кополімером ВП-ВС у модельне середовище, та ступеню біосумісності створених нами композицій для їх подальшого використання в медичній практиці.

Для отримання нових полімерних матеріалів з лікарською дією як ЛР було обрано вітчизняний препарат — амізон (АМ), що належить до групи ненаркотичних анальгетиків та володіє протизапальною, жарознижуючою, антиоксидантною, імуномодельною та інтерферогенною діями.

Амізон (АМ) — N-метил-4-бензилкарбамідопіридиній йодид — має таку структурну формулу:



Протизапальний ефект препарату амізон зумовлений його спроможністю стабілізувати клітинні і лізосомальні мембрани, знижувати проникність мікроциркуляторного русла, брати активну участь в обміні медіаторів запалення. Препарат сприяє скороченню тривалості місцевих запальних процесів. Протівірусна дія зумовлена активацією препаратом механізму протівірусного захисту внаслідок утворення ендogenous інтерферону, що гальмує репродукцію збудника, а також забезпечує виведення з крові різних токсичних продуктів, які циркулюють у кров'яному руслі. Амізон виявляє стимулюючу дію на фактори природної протиінфекційної резистентності та імунні показники [5].

Вибір амізону був зумовлений тим, що, завдяки широкому спектру фармакологічної дії, амізон можна застосовувати при лікуванні хворих за наявності різноманітних патологічних станів, що супроводжуються запальним або больовим синдромом. Кількість амізону в композиціях становила 6% по масі, що не перевищує його терапевтичної дози [6].

За полімерну матрицю було обрано макродіізоціанат (МДІ) на основі поліоксіпропілен-гліколю (ПОПГ) ("Рокорол", Польща) з ММ 1000 та суміші ізомерів 2,4- та 2,6-толуїлендіізоціанату (ТДІ) в співвідношенні 80/20% по масі (BAYER, Німеччина). Синтез проводили при мольному співвідношенні груп NCO/OH = 2, вміст вільних NCO-груп 6,23% (визначали титриметричним методом).

Для дослідження впливу способу іммобілізації на динаміку виходу ЛР було розроблено композиції, в яких (для надання можливості хімічної взаємодії між NCO-групою МДІ та NH-групою амізону) до МДІ додавали розчин лікарського препарату в N, N-диметилформаміді (ДМФА) та після ретельного перемішування нагрівали при 65°C протягом 1 год. Композиція, що отримана цим способом, має абревіатуру (хім): 1 — МДІ-АМ(6%)-(хім). Іншу композицію (для надання фізичної іммобілізації ЛР за рахунок тільки водневих зв'язків) одержували шляхом додавання розчину амізону в ДМФА до МДІ, ретельного перемішування та виливання на тефлонову основу. Ця композиція має абревіатуру (фіз): 2 — МДІ-АМ(6%)-(фіз).

Отвердження полімерних композицій проводили в тефлонових формах при температурі 20-25 °C протягом 72 год.

Оскільки полімерні матеріали з лікувальною дією призначені функціонувати в водному середовищі організму, то для виходу ЛР суттєвою характеристикою полімерної матриці є її гідрофільність. Тому введення в структуру поліуретану гідрофільних ланцюгів кополімеру N-вінілпіролідону з вініловим спиртом (ВП-ВС) та отримання на основі нього гідрофільного носія полімерного лікарського матеріалу пролонгованої дії є доцільним.

Була проведена іммобілізація протизапального препарату — амізону одночасно з утворенням полімерного носія на основі МДІ та кополімеру ВП-ВС [7]. Розроблено

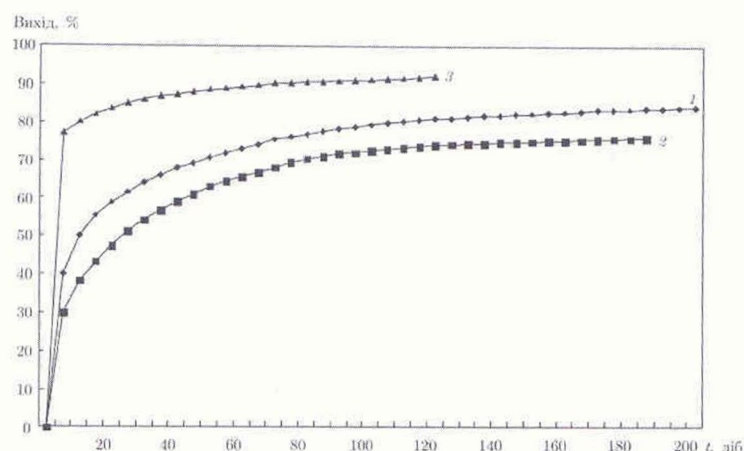


Рис. 1. Динаміка сумарного виходу (%) аміфону із зразків до фізіологічного розчину (днів):
1 — МДІ-АМ(6%)-(хім); 2 — МДІ-АМ(6%)-(фіз); 3 — МДІ-АМ(6%)-ВП-ВС-(хім)

гідрофільний полімерний лікарський матеріал 3 — МДІ-АМ(6%)-ВП-ВС-(хім) та 4 — МДІ-ВП-ВС-АМ(6%)-(фіз).

Вихід аміфону з полімерних зразків у модельне середовище (фізіологічний розчин) вивчали спектрофотометричним методом. Електронні спектри поглинання розчинів аміфону реєстрували на приборі "Specord M40" в кюветах з товщиною шару 10 мм, розчин для порівняння — фізіологічний (0,9%-ний водний розчин хлористого натрію). Для перевірки виконання закону Бера та побудови калібрувального графіку залежності оптичної густини від концентрації провели аналіз серії водних розчинів аміфону. УФ-спектр аміфону має інтенсивний максимум поглинання при довжині хвилі $\lambda = 266-267$ нм.

Залежність оптичної густини в максимумі смуги від концентрації розчинів аміфону представляє собою пряму лінію, яка проходить через початок координат. Таким чином, підтверджується виконання закону Бера для даної сполуки в інтервалі робочих концентрацій.

Динаміку виходу ЛР з одержаних композицій досліджували наступним чином: зразки поміщали в бюкси, заповнені 10 мл фізіологічного розчину, термостатували при температурі $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ протягом визначеного терміну експерименту. Потім розчин зливали, відфільтровували та визначали оптичну густину на спектрофотометрі. За контрольний розчин використовували витяжки зі зразків, які не містять ЛР та кополімеру ВП-ВС (на основі МДІ). Зразки полімерів знову повертали до бюксів. З метою наближення модельних умов експерименту до умов функціонування плівкових терапевтичних систем в контакт з живим організмом визначення кількості вивільненої ЛР з плівок проводили при багаторазовій (через визначені проміжки часу) зміні фізіологічного розчину. Отримані результати статистично оброблювали методом найменших квадратів. Спектри поглинання досліджуваних розчинів аміфону до і після експозиції полімерних зразків в указаних умовах були ідентичними спектру самого аміфону, тобто ЛР в умовах синтезу та експерименту не зазнала ніяких змін. Така стабільність аміфону є суттєвою, оскільки дозволяє використовувати його для полімерних лікарських матеріалів, стійких до гідролізу при

температурі 37 °С протягом 200 діб. У межах чутливості методу при подальшому витримуванні полімерних зразків в модельному середовищі вимивання амізону не спостерігали.

Кількість амізону, який вийшов до фізіологічного розчину з досліджених композицій, визначали за формулами:

$$AM = \frac{C \cdot n \cdot V}{100} \text{ г}, \quad AM = \frac{AM(r)}{m} \cdot 100\%,$$

де C — концентрація амізону в розчині, визначена з калібрувального графіку, θ г/л; n — кількість розведень розчину в процесі аналізу; V — об'єм розчину середовища, в якому проводилось вимивання, мл; m — маса введеного до полімеру амізону.

Динаміка виходу амізону із зразків досліджуваних композицій представлена в табл. 1-3, сумарний вихід амізону із зразків після експозиції в фізіологічному розчині зображено у вигляді графіків на рис. 1.

Таблиця 1. Динаміка виходу амізону з поліуретинової композиції 1 — МЦ-АМ(6%)-(хім) в умовах, моделюючих внутрішнє середовище організму

Час виходу, доба	Оптична густина (D)	Концентрація амізону %, $\text{г/100 мл} \cdot 10^{-3}$	Кількість вивільненого амізону	
			$\text{г} \cdot 10^3$	% загальної кількості
1	$0,40 \pm 0,02$	1,70	8,500	19,00
3	$0,78 \pm 0,03$	3,32	6,640	14,35
4	$0,40 \pm 0,01$	1,71	1,710	4,32
7	$0,42 \pm 0,01$	1,80	3,600	8,05
8	$0,17 \pm 0,00$	0,70	0,700	1,56
10	$0,29 \pm 0,01$	1,25	1,250	2,80
14	$0,50 \pm 0,02$	2,14	2,140	4,78
17	$0,25 \pm 0,01$	1,08	1,080	2,42
21	$0,26 \pm 0,01$	1,10	1,100	2,45
24	$0,13 \pm 0,00$	0,56	0,560	1,26
28	$0,45 \pm 0,03$	1,93	0,965	2,15
31	$0,28 \pm 0,02$	1,18	0,590	1,32
43	$0,44 \pm 0,01$	1,88	1,880	4,21
49	$0,38 \pm 0,01$	1,62	0,810	1,81
70	$0,53 \pm 0,02$	2,26	2,260	5,05
77	$0,24 \pm 0,01$	1,01	0,505	1,13
84	$0,51 \pm 0,02$	2,19	0,438	0,98
91	$0,45 \pm 0,02$	1,92	0,384	0,86
101	$0,57 \pm 0,03$	2,41	0,482	1,07
112	$0,55 \pm 0,02$	2,35	0,470	1,05
122	$0,28 \pm 0,01$	1,18	0,236	0,53
133	$0,33 \pm 0,01$	1,43	0,286	0,64
143	$0,55 \pm 0,02$	2,33	0,233	0,52
157	$0,68 \pm 0,02$	2,91	0,291	0,65
168	$0,38 \pm 0,01$	1,60	0,160	0,36
179	$0,34 \pm 0,01$	1,46	0,146	0,33
189	$0,24 \pm 0,01$	1,02	0,102	0,22
200	$0,24 \pm 0,01$	1,04	0,104	0,24
Загальна кількість			37,622	84,11

З даних табл. 1 і 2 випливає, що для полімерних зразків 1 — МДІ-АМ(6%)-(хім) та 2 — МДІ-АМ(6%)-(фіз) характерне поступове вивільнення амізону до модельного середовища. Треба зазначити, що для зразка 1 вихід ЛР становить 84% впродовж 200 діб, а для зразка 2 76% протягом 189 діб. Таким чином, спостерігається пролонгований та більш повний вихід амізону із зразків, де є хімічно іммобілізована ЛР.

З полімерного зразка 3 (табл. 3) на основі нового гідрофільного блок-кополіуретану, який містить кополімер ВП-ВС, в першу добу експерименту до модельного десорбуючого середовища вийшло 67% амізону. Протягом наступного часу вихід ЛР значно уповільнюється і протягом 122 діб становить 92%. Таким чином, збільшення гідрофільності полімерної матриці за рахунок введення блоків кополімеру ВП-ВС у структуру ПУ призвело до більш повного виходу ЛР до модельного середовища. Вихід амізону з полімерного зразка 4, де лікарський препарат був іммобілізований за рахунок фізичних зв'язків, становить 100% протягом трьох днів.

Відомо [8], що для насичення пляхів, які приводять до рецепторів, корисним є підвищений вихід ЛР в перший момент дії полімерної лікарської системи. Нерівномірна програма

Таблиця 2. Динаміка виходу амізону з поліуретанової композиції 2 — МДІ-АМ(6%)-(фіз) в умовах, моделюючих внутрішнє середовище організму

Час виходу, доба	Оптична густина (<i>D</i>)	Концентрація амізону %, г/100 мл · 10 ³	Кількість вивільненого амізону	
			г · 10 ³	% загальної кількості
1	0,28 ± 0,01	1,19	5,950	13,28
3	0,57 ± 0,03	2,43	4,860	10,85
4	0,38 ± 0,02	1,60	1,600	3,57
7	0,36 ± 0,01	1,53	3,060	6,83
8	0,13 ± 0,01	0,55	0,550	1,22
10	0,25 ± 0,01	1,08	1,080	2,42
14	0,46 ± 0,02	1,95	1,950	4,35
17	0,26 ± 0,01	1,10	1,100	2,45
21	0,37 ± 0,02	1,57	1,570	3,51
24	0,18 ± 0,00	0,78	0,780	1,74
28	0,54 ± 0,02	2,31	1,155	3,58
31	0,41 ± 0,01	1,73	0,865	0,93
43	0,58 ± 0,03	2,45	2,450	5,46
49	0,56 ± 0,02	2,37	1,185	2,65
70	0,55 ± 0,03	2,34	2,340	5,22
77	0,37 ± 0,01	1,56	0,780	1,74
84	0,56 ± 0,04	2,38	0,476	1,06
91	0,45 ± 0,02	1,93	0,386	0,87
101	0,54 ± 0,03	2,32	0,464	1,03
112	0,48 ± 0,02	2,04	0,408	0,91
122	0,23 ± 0,03	1,00	0,200	0,45
133	0,26 ± 0,01	1,08	0,216	0,48
143	0,37 ± 0,02	1,59	0,159	0,36
157	0,45 ± 0,03	1,92	0,192	0,42
168	0,26 ± 0,01	1,10	0,110	0,25
179	0,23 ± 0,04	0,96	0,096	0,21
189	0,16 ± 0,01	0,69	0,069	0,16
Загальна кількість		—	34,125	76,00

подачі ліків в організм з поступовим її затуханням доцільна для ударної терапії з подальшим підтримуючим лікуванням. Беручи до уваги той факт, що ЛР подається по оптимальній для терапевтичних цілей програмі та зазвичай попадає безпосередньо в орган-мішень без попереднього проходження через печінку, кількість ЛР в одиницю часу при стаціонарному режимі знаходиться поряд з нижнім терапевтичним рівнем. В результаті чого загальна кількість препарату, необхідна для лікування, значно менша ніж в традиційних лікарських формах, а побічні ефекти практично відсутні.

В результаті досліджень встановлено, що на динаміку вивільнення амізону впливає спосіб іммобілізації ЛР та хімічна структура полімерного носія. Також, на нашу думку, високий вихід амізону з усіх полімерних зразків можна пояснити високою розчинністю у воді та іонною природою ЛР, внаслідок подавлення іон-молекулярних водневих зв'язків між амізоном та уретановими групами полімеру водним розчином NaCl, який має певну іонну силу. Таке пояснення не суперечить літературним даним [1].

Для вивчення ступеня біосумісності були проведені гістотоксичні дослідження за методом культури тканин, який є модельною тест-системою у токсикологічному експерименті. За об'єкти використовували зразки поліуретанових композицій МДІ-АМ(6%)-(хім), МДІ-АМ(6%)-ВІІ-ВС-(хім). Як контроль для можливого впливу кополімеру ВІІ-ВС на токсичність полімерів використовували зразки на основі МДІ. Всі зразки були у вигляді плівок.

Джерелом клітин служила підшкірна клітковина білих безпородних щурів, яка в умовах культивування дає ріст фібробластичних та фібробластоподібних елементів. Культури були досліджені методом експлантації в згустку плазми у флаконах Карреля, з додаванням живильного середовища 199 для культури тканини при співвідношенні 1 см² полімерної плівки до 1 мл живильного середовища та витриманні протягом 24 год при температурі (37 ± 1)°C. На третю добу культивування рідинну фазу живильного середовища повністю замінили отриманою витяжкою (2 мл). В якості контролю використовували культуру, яка виросла без додавання витяжки. Кількісню оцінку росту проводили на п'яту, сьому та десяту добу культивування шляхом визначення зональної активності (АР), зональної інтенсивності

Таблиця 3. Динаміка виходу амізону з поліуретанової композиції 3 — МДІ-АМ(6%)-ВІІ-ВС в умовах, моделюючих внутрішнє середовище організму

Час виходу, доба	Оптична густина (D)	Концентрація амізону %, г/100 мл · 10 ³	Кількість вивільненого амізону	
			г · 10 ³	% загальної кількості
1	0,44 ± 0,02	1,85	9,250	67,13
3	0,13 ± 0,00	0,56	1,120	8,12
7	0,55 ± 0,04	2,33	0,466	3,39
14	0,99 ± 0,03	4,21	0,421	3,05
17	0,40 ± 0,02	1,72	0,172	1,25
21	0,35 ± 0,01	1,47	0,147	1,07
28	0,54 ± 0,03	2,32	0,232	1,68
31	0,19 ± 0,02	0,79	0,079	0,57
43	0,56 ± 0,03	2,39	0,239	1,74
49	0,19 ± 0,01	0,82	0,082	0,59
70	0,56 ± 0,04	2,37	0,237	1,72
84	0,23 ± 0,01	0,96	0,096	0,70
122	0,43 ± 0,01	1,85	0,185	1,34
Загальна кількість	—	—	12,726	92,35

росту (ІР) та показника гістотоксичності (ПГТ) за формулами [9, 10]. Отримані наступні дані ПГТ: № 1 — МДІ-АМ(6%)-(хім) — $0,87 \pm 0,01$; № 2 — МДІ-АМ(6%)-ВІІ-ВС-(хім) — $0,84 \pm 0,02$; контроль — $0,79 \pm 0,02$.

Отримані результати свідчать про можливість регулювання виходу ЛР з полімерних систем за рахунок поєднання фізико-хімічних властивостей полімерного носія та способу іммобілізації амізону. З огляду на граничні значення показника гістотоксичності (ПГТ $\geq 0,72$), проведені дослідження дозволяють зробити висновок про відсутність гістотоксичного впливу зразків МДІ-АМ(6%)-(хім) та МДІ-АМ(6%)-ВІІ-ВС-(хім) на культивовані клітини. Отже, отримані полімерні лікарські форми амізону є біосумісними і можуть знайти широке застосування в медичній практиці.

1. Шальнова Л. И., Николаев А. Ф. Материалы на основе сополимеров N-виниламидоуксусной кислоты для медицинского применения // Пласт. массы. — 2000. — № 3. — С. 42–45.
2. Жернова Л. М., Луговська Г. Г., Починюк С. В. та ін. Макромолекулярні терапевтичні системи, що містять антибіотики цефалоспоринового ряду // Доп. НАН України. — 2001. — № 2. — С. 139–143.
3. Галатенко Н. А., Нечасва Л. Ю., Савицька Е. С., Гриценко В. П. Разработка биодеструктируемых полимерных композиций на основе полиуретана с пролонгированным выходом иммуномодулятора // Биосовместимость. — 1995. — 3, № 3. — /4. — С. 97–105.
4. Мазур Л. М., Будилова И. Ю., Нечасва Л. Ю., Галатенко Н. А. Изучение динамики выхода лекарственного вещества из полимерной композиции с антинаркотическим действием // Доп. НАН України. — 2004. — № 2. — С. 157–160.
5. Бухтіарова Т. С., Даниленко В. П., Хоменко В. С. та ін. Сучасний нестероїдний протизапальний препарат та індуктор інтерферону амізон: перспективи застосування // Укр. мед. часопис. — 2003. — № 1. — С. 72–74.
6. Лікарські препарати України. 1999. — 2000. — Харків: Прапор, 1999. — Т. 1. — 45 с.
7. Мазур Л. М., Рожникова Р. А., Дроздова В. І., Галатенко Н. А. Синтез нової полімерної лікарської форми // Доп. НАН України. — 2006. — № 7. — С. 152–156.
8. Платз Н. А., Васильев А. Е. Основные принципы создания лекарственных полимеров и макромолекулярных терапевтических систем // Хим.-фарм. журн. — 1980. — № 7. — С. 16–30.
9. Яценко В. П., Галатенко Н. А., Пжакадзе Г. А., Липатова Т. Э. Метод количественного исследования роста фибробластических клеток в культуре ткани // Цитология и генетика. — 1984. — № 4. — С. 280–284.
10. Галатенко Н. А., Яценко В. П., Пжакадзе Г. А. Определение гистотоксичности полимеров медицинского назначения с использованием тканевой культуры // Докл. АН УССР. — 1982. — № 9. — С. 54–58.

Інститут хімії високомолекулярних сполук
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 27.11.2006