

Химико- фармацевтический журнал



МОСКВА • ФОЛИУМ • 2013

11

*И. В. Ковальский, И. И. Краснюк, И. И. Краснюк (мл.), О. И. Никулина,
А. В. Беляцкая, Ю. Я. Харитонов, Н. Б. Фельдман, С. В. Луценко, В. В. Грих*

ИЗУЧЕНИЕ РАСТВОРИМОСТИ РУТИНА ИЗ ТВЕРДЫХ ДИСПЕРСИЙ

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Россия, Москва

Определено влияние твердых дисперсий (ТД) на растворимость рутина. Исследованы рутин и его ТД с полиэтиленгликолем-1500 и поливинилпирролидоном-10000. Полученные ТД повышают растворимость и скорость растворения действующего вещества. Растворимость рутина из ТД увеличилась в 52 раза. Комплекс физико-химических методов исследования позволяет предположить, что улучшение высвобождения рутина из ТД происходит за счет снижения кристалличности и образования твердого раствора ЛВ в полимере.

Ключевые слова: твердые дисперсии; растворимость; антиоксидант; рутин; полиэтиленгликоль-1500; поливинилпирролидон-10000.

Одним из показателей эффективной фармакотерапии является поддержание необходимой концентрации действующего вещества в кровотоке, благодаря чему обеспечивается нужный терапевтический эффект. Особое значение для препаратов перорального приема играет такой фармакокинетический фактор, как биодоступность (БД). БД характеризуется такими показателями, как доля всосавшегося в кровь ЛВ от его общего содержания в лекарственной форме (ЛФ), скорость попадания в кровяное русло, время поддержания постоянной концентрации в организме. БД не является неизменным параметром, и при создании современных лекарственных форм существует возможность значительно ее увеличить [1].

В настоящее время одним из способов повышения БД являются методы получения твердых дисперсий различными способами. Твердые дисперсии (ТД) являются би- или многокомпонентными системами, состоящими из лекарственного вещества (ЛВ) и носителя и представляющими высокодисперсную твердую фазу ЛВ или твердые растворы с частичным образованием комплексов переменного состава с материалом носителя [2].

Рутин является одним из веществ группы биофлавоноидов, обладающих выраженным ангиопротекторным и антиоксидантным действием. По своим физико-химическим свойствам рутин относится к соединениям с малой растворимостью в воде и, как правило, низкой БД. Для увеличения БД и фармакологического эффекта целесообразно повышение растворимости рутина в воде [3 - 5].

Целью работы являлось изучение влияния состава и технологии изготовления ТД на растворимость рутина.

Экспериментальная часть

В работе использовалась субстанция рутин производства Merck (Германия) (Серия MM93001, срок годности 4 года, процентное содержание 95%), отвечающая требованиям нормативной документации. В качестве полимеров-носителей для изготовления ТД использовали полиэтиленгликоль (ПЭГ) с молекулярной массой 1500 Да, MERCK (Германия), поливинилпирро-

лидон (ПВП) с молекулярной массой 10000 Да, SIGMA-ALDRICH (США) (каталожный номер 9003-39-8).

Технология приготовления ТД. Выбор технологии изготовления ТД основан на физико-химических свойствах ЛВ и полимеров. Рутин является достаточно термостабильным веществом, поэтому образцы ТД готовили методом удаления растворителя.

С учетом растворимости рутина и полимеров в качестве общего растворителя при приготовлении ТД использовали спирт этиловый. Рассчитанные количества ЛВ и полимера растворяли в этаноле на водяной бане при температуре 70 °С, после чего растворитель выпаривали под вакуумом (вакуумный насос Microsart mini.vac 16694-2-50-06, Sartorius Stedim Biotech S. A., Германия) на водяной бане при температуре не более 70 ± 2 °С и перемешивании до постоянной массы.

Изучение растворения ТД. Изучение растворимости и скорости растворения рутина и его ТД проводили при помощи магнитной мешалки с регулируемым подогревом, оборудованной приспособлением для термостатирования (мешалка магнитная MSH basic (IKA, Германия)).

ТД рутина с ПВП представляет собой желтый аморфный порошок, склонный к слипанию, ТД с ПЭГ — желтую трудно измельчаемую вязкую массу.

Образцы рутина и его ТД растворяли в 150 мл воды очищенной при перемешивании (скорость оборотов мешалки 200 об/мин). Число повторностей эксперимента для каждого из образцов равнялось 5. Температура опыта 37 ± 1 °С. Через определенные интервалы времени (5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60 мин) стеклянной пипеткой объемом 5 мл отбирали по 5 мл раствора. После отбора пробы проводилось восполнение среды до 150 мл водой очищенной температуры 37 ± 1 °С. Для фильтрации отобранных проб использовали шприцевые фильтры Minisart с размером пор 0,45 мкм. При необходимости перед измерением концентрации пробу разводили водой очищенной до достижения необходимой оптической плотности (наиболее точный диапазон определения оптической плотности: 0,5 ± 0,1).

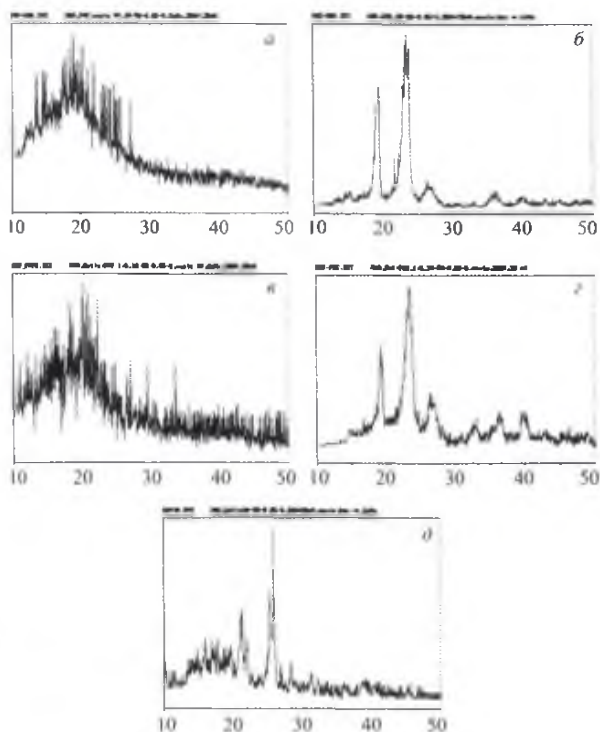


Рис. 1. Диаграммы результатов рентгеноструктурного анализа: а — ПВП, б — ПЭГ, в — ТД рутин:ПВП, г — ТД рутин:ПЭГ, д — рутин.

Концентрацию рутина определяли методом УФ-спектрофотометрии (спектрофотометр UNICO 2800, SpectroQuest, USA). Оптическую плотность растворов-проб измеряли при 350 ± 2 нм. Концентрацию рутин в пробах определяли с помощью калибровочных кривых, построенных с использованием стандартных растворов (концентрации стандартных растворов равнялись $4,164 \cdot 10^{-2}$, $3,393 \cdot 10^{-2}$, $2,735 \cdot 10^{-2}$, $1,882 \cdot 10^{-2}$ и $0,991 \cdot 10^{-2}$ г/л соответственно, аналитический диапазон методики по концентрации — $4,164 \cdot 10^{-2} - 0,991 \cdot 10^{-2}$ г/л, по оптической плотности — от 0,25 до 1).

Повышение растворимости определялось как отношение концентрации рутин в растворе ТД к концентрации ЛВ в растворе субстанции рутин на конец эксперимента (60 мин).

Рентгеноструктурный анализ ТД проводили на аппарате ДРОН-4 (НПП "Буревестник", Россия) при следующих условиях: излучение $\text{Cu K}\alpha$, режим работы — $U = 30$ кВ, $I = 30$ мА; съемка без вращения; режим сканирования по программе EXPRESS: шаг $0,05$ град/2θ; время набора импульсов — 5 с; наполнитель при изготовлении образцов — приборное масло. Рентгенограммы образцов рутин представлены на рис. 1.

Микрокристаллоскопический анализ проводили с использованием цифрового микроскопа STL-BL 900 ("QIDDYCOMB", Россия). Порошок рутин микроскопировали в вазелиновом масле. В случае ТД на предметное стекло наносили этанольный раствор ЛВ и полимера и после удаления растворителя микроскопировали. Аналогично отдельно были изучены ПЭГ, ПВП и перекристаллизованный рутин. Результаты представлены на рис. 1.

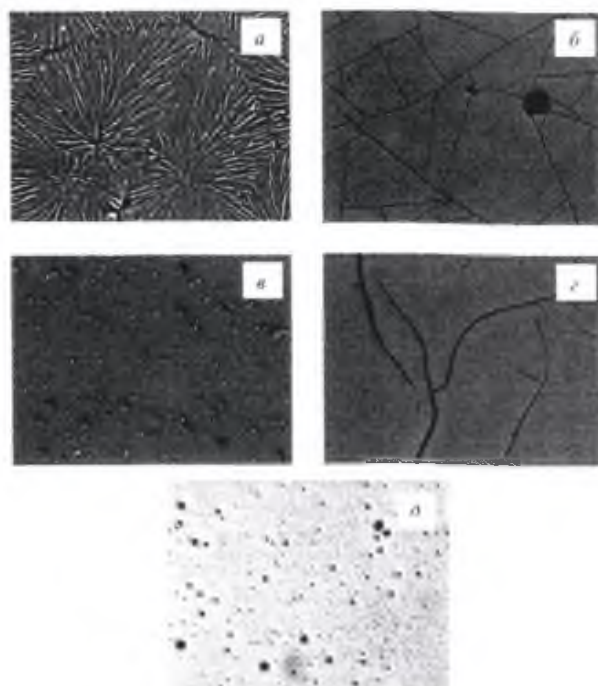


Рис. 2. Микрофотографии образцов рутин и его твердых дисперсий, ув. $\times 8$. а — ТД рутин:ПЭГ, б — ТД рутин:ПВП, в — рутин, г — ПВП, д — ПЭГ.

ИК-спектрометрический анализ проводили на базе испытательной лаборатории экспертизы качества лекарственных средств НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России. Образцы для исследования изготавливались согласно методике получения ТД, описанной выше. Измерения проводили на ИК-Фурье спектрометре Nicolet 6700 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) с помощью насадки Smart performer — горизонтальной ATR-приставки с горизонтальной пробоотборной поверхностью. Диафрагма — 100; число сканов пробы — 64; разрешение — 4,0; выборка — $1,928 \text{ см}^{-1}$; пределы — $4000 - 650 \text{ см}^{-1}$; оптика — ZnSe; источник — ИК; скорость зеркала — $0,6329$; детектор — DTGS KBr; светоделиитель — ХТ-КВг.

ИК-спектры снимали с помощью автоматической программы OMNIC (версия 7.1.401). Результаты эксперимента представлены на рис. 2 и 3.

Результаты и их обсуждение

Результаты измерения концентрации рутин в различных водных растворах представлены в таблице. Относительная погрешность измерений составила 4–5%. Доказано, что благодаря получению ТД во всех исследованных случаях повышается растворимость и скорость растворения рутин (по сравнению с субстанцией).

Все полученные ТД значительно влияют на растворимость ЛВ, повышая ее от 5 до 52 раз (рис. 4).

Наибольшее увеличение растворимости рутин (в 52 раза) наблюдается для ТД с ПВП в соотношениях 1:5 и 1:10. При этом скорость достижения максимальной концентрации рутин зависит от содержания ПВП в составе ТД. В случае ТД рутин:ПВП 1:5 максимум концентрации достигался уже через 10 мин после начала экс-

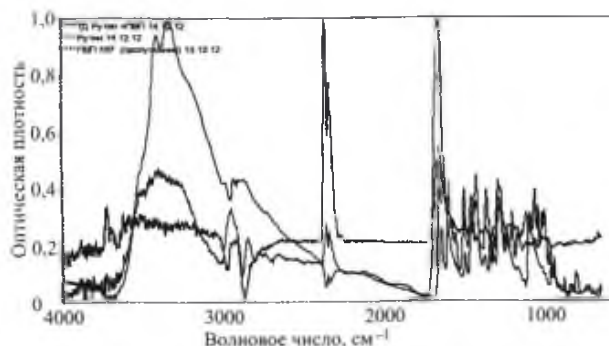


Рис. 3. ИК спектр сравнения рутина, ПВП и ТД рутин:ПВП.

перимента и составлял $211,127 \cdot 10^{-2}$ г/л, тогда как в случае ТД рутин:ПВП 1:10 максимум был достигнут только через 20 мин и составлял $214,228 \cdot 10^{-2}$ г/л (различия между значениями статистически не значимы, $p = 0,95$). Очевидно, такая разница возникает из-за более высокой массы пробы ТД 1:10, для растворения которой нужно больше времени. Тем не менее в случае растворения ТД рутин:ПВП 1:10 на конец эксперимента концентрация рутина в растворе оставалась на более высоком уровне и составила $178,119 \cdot 10^{-2}$ г/л против $60,529 \cdot 10^{-2}$ г/л для ТД рутин:ПВП 1:5.

Изучение растворения ТД рутин:ПЭГ 1:5 показало, что максимальная концентрация рутина в растворе достигнута за 10 мин и составила $177,485 \cdot 10^{-2}$ г/л, что в 1,19 раз меньше, чем в случае ТД рутин:ПВП 1:5 – $211,127 \cdot 10^{-2}$ г/л (различия между значениями статистически не значимы, $p = 0,95$). На конец эксперимента концентрация рутина снизилась до $16,434 \cdot 10^{-2}$ г/л, что в 3,68 раз меньше, чем у ТД рутин:ПВП 1:5, что свидетельствует о меньшей способности ПЭГ к стабилизации раствора. Максимальная концентрация рутина наблюдалась в растворе ТД рутин:ПВП 1:10 и превышала концентрацию свободного рутина в 52 раза.

Также значительное влияние полимеры оказывают и на скорость растворения рутина в воде, обуславливая скачкообразный подъем концентрации ЛВ в первые 10 – 15 мин на кривых растворения ТД (рис. 4).

В случае растворения ТД с ПЭГ на первые 10 – 15 мин эксперимента приходится максимальный рост концентрации ЛВ, которая составляла $177,487 \cdot 10^{-2}$ г/л, в то время как концентрация субстанции рутина не превышала $(3,4 - 3,9) \cdot 10^{-2}$ г/л. Дальнейшее снижение концентрации рутина может быть связано с его рекристаллизацией из образовавшегося пересыщенного раствора, а также может быть обусловлено высаливающим действием полимера.

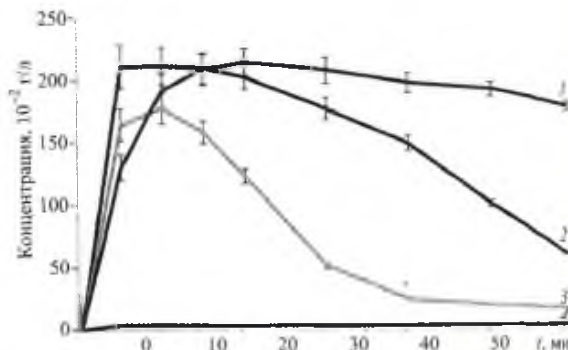


Рис. 4. Динамика растворения рутина и его твердых дисперсий. 1 — рутин:ПВП (0,3:3,0); 2 — рутин:ПВП (0,3:1,5); 3 — рутин:ПЭГ; 4 — рутин.

Более яркое влияние полимера на растворимость показано на примере растворения ТД с ПВП в соотношении 1:5 и 1:10. В растворе этих ТД в первые 10 – 15 мин достигалась максимальная концентрация, которая составляла $211,127 \cdot 10^{-2}$ и $214,228 \cdot 10^{-2}$ г/л соответственно, в то время как у субстанции рутина концентрация колебалась на отметке $(3,4 - 3,9) \cdot 10^{-2}$ г/л. Дальнейшее снижение концентрации также скорее всего связано в рекристаллизацией ЛВ из пересыщенного раствора, сопровождающееся помутнением раствора (на 20 – 25 мин у ТД с ПВП 1:5), однако в случае ТД 1:10 помутнения не наблюдалось, и концентрация раствора на конец эксперимента снизилась не так значительно по сравнению с ТД 1:5, что говорит о выраженных стабилизирующих свойствах ПВП.

Одной из задач исследования было изучение механизмов, отвечающих за изменение растворимости и скорости растворения рутина из ТД. В ряде изученных работ подтверждено, что получение ТД для повышения растворимости и скорости растворения ЛВ является принципиальным. Метод получения физических смесей ЛВ с полимерами не приводит к аналогичному повышению растворимости и скорости растворения ЛВ. При растворении физической смеси рутин:ПВП и рутин:ПЭГ на 5 мин от начала эксперимента концентрация рутина в растворе равнялась $5,7853 \cdot 10^{-2}$ и $4,4381 \cdot 10^{-2}$ г/л соответственно. На 60 мин концентрация рутина в исследуемых растворах оставалась на тех же уровнях.

ТД в значительной мере повышают скорость растворения и/или растворимость ЛВ за счет того, что ЛВ в условиях ТД может утрачивать кристаллическую структуру еще до контакта с растворителем, и при растворении ТД полимерная матрица высвобождает ЛВ в молекулярно-дисперсном или коллоидном виде. ТД позволяют по-

Изменение концентрации растворов рутина и его ТД во времени

Образец	Масса образца ЛВ: полимер, г	Среднее значение концентрации рутина в растворе образца ($\times 10^{-2}$ г/л) от начала растворения *							
		5 мин	10 мин	15 мин	20 мин	30 мин	40 мин	50 мин	60 мин
Рутин	0,300	3,935	3,891	3,56	3,526	3,487	3,478	3,447	3,438
ТД Рутин:ПЭГ	0,300:1,500	164,210	177,485	158,226	123,276	51,514	24,389	19,624	16,434
ТД Рутин:ПВП 1	0,300:1,500	210,572	211,127	209,621	202,488	177,187	149,093	100,709	60,529
ТД Рутин:ПВП 2	0,300:3,000	130,271	191,294	208,537	214,228	208,136	197,634	192,285	178,119

* число измерений равно 5.

лучать растворы с необходимой концентрацией ЛВ, минуя длительную фазу его диссоциации.

При получении ТД рутин может полностью или частично терять свою кристалличность — образуется твердый раствор или высокодисперсная твердая фаза кристаллического или аморфного характера ЛВ в полимере. Подтверждением этого могут служить изменения в рентгенограммах ТД рутин:ПВП и рутин:ПЭГ по сравнению с ЛВ (рис. 1).

Рентгенограммы ТД имеют значительные отличия в характере и интенсивности пиков максимумов адсорбции по сравнению с субстанцией ЛВ (рис. 1, д). По результатам рентгеноструктурного анализа сделаны следующие выводы: в ТД с ПВП и с ПЭГ не обнаружена кристаллическая структура рутина, присутствуют изменения, указывающие на возможность образования новой структуры, имеющей собственную кристаллографическую картину, не соответствующую механической смеси ЛВ и полимера или твердому раствору ЛВ в полимере.

Данные микрокристаллоскопического анализа в полной мере согласуются с результатами рентгеноструктурного анализа. По данным микрокристаллопии на светлом фоне поля микроскопа при световом микроскопировании изучаемые объекты представляют собой следующую картину.

Свободный рутин (рис. 2, в) — желто-зеленые прозрачные частицы неправильной формы с ровными краями в желтоватой пленке.

ТД с ПВП (рис. 2, б) — практически полное отсутствие свободных кристаллов действующего вещества. Картина ТД с ПВП принципиально отличается от таковой для индивидуальных ПВП (рис. 2, г) и рутина (рис. 2, в) после удаления этанола. Полимер представлен прозрачными, бесцветными пленками без внутренней структуры, растрескивающимися при высыхании в произвольных направлениях на фрагменты различного размера, рутин — пленкой желтоватого цвета с включением большого количества кристаллов различного размера.

ТД с ПЭГ (рис. 2, а) — бесцветный относительно прозрачный слой различной толщины. Он содержит небольшое количество характерных частиц ЛВ и в большинстве своем представляет раствор ЛВ в полимере. Картина ТД во многом идентична ПЭГ после удаления этанола — представляет собой ячеистую структуру (рис. 2, д).

При исследовании полученных ТД методом ИК-спектрометрии отмечено общее снижение интенсивности

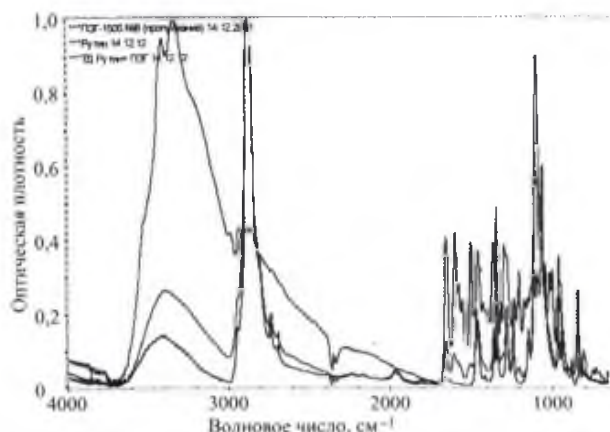


Рис. 5. ИК спектр сравнения рутина, ПЭГ и ТД рутин:ПЭГ

(вплоть до полного исчезновения) отдельных характеристических полос поглощения, отвечающих различным группам атомов в молекуле ЛВ в составе ТД, которое может быть объяснено значительным экранирующим действием полимеров (рис. 3 и 5). Не было обнаружено признаков взаимодействия между ЛВ и полимерами, что может свидетельствовать в пользу сохранения терапевтических свойств ЛВ.

Таким образом, полученные в работе результаты свидетельствуют об увеличении растворимости и скорости растворения в воде рутина из ТД с ПВП и ПЭГ. Лучшие показатели растворимости и скорости растворения рутина установлены у ТД с ПВП в соотношении 1:10 (0,3 г:3,0 г). С позиции проведенного комплекса исследований повышение растворимости и скорости растворения ЛВ из ТД может быть объяснено целым рядом физико-химических взаимодействий компонентов ТД. На стадии приготовления и растворения ТД могут наблюдаться солибилизирующее действие полимера, снижение кристалличности ЛВ (аморфизация), получение твердых растворов ЛВ в матрице полимера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Bajaj, S. Bisht, M. Yadav, V. Singh, *Int. J. Pharma Bio Sci.*, 2(2), 202 – 216 (2011).
2. И. И. Краснож, *Автореф. дис. канд. фарм. наук*, Москва (2003).
3. И. В. Ковальский, С. В. Луценко, Н. Б. Фельдман и др., *“XX Человек и лекарство”*, Москва (2013), с. 355.
4. Патент России 2454220 (2009).
5. Патент России 2167649с (2007).

Поступила 21.07.13

STUDY SOLUBILITY OF RUTIN FROM SOLID DISPERSIONS

I. V. Kovalskiy, I. I. Krasnuk, I. I. Krasnuk (jr), O. I. Nikulina, A. V. Belyackaya, U. Y. Haritonov, N. B. Feldman, C. V. Lucenko, V. V. Grikh

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University

The aim of the study is to define the effect of solid dispersions (SD) on the solubility of rutin. Rutin and its SD with polyethyleneglycol-1500 and polyvinylpyrrolidone-10000 were studied. SD production increases the solubility and the rate of solubility. Rutin solubility from SD has increased to 52 times. Complex physical and chemical methods of study suggested that the improvement of rutin release from SD takes place at the expense of crystalbility decrease and formation the solution of active substance in polymer.

Key words: solid dispersions; solubility; antioxidant, rutin; polyethyleneglycol-1500; polyvinylpyrrolidone-10000.