



ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ СУППОЗИТОРИЕВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВАГИНАЛЬНОГО КАНДИДОЗА

Т.А. Панкрушева
Т.В. Автина
М.В. Покровский
О.А. Медведева

*Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: tatyanaavtina@yandex.ru

В статье приведены результаты физико-химических, биофармацевтических и технологических исследований по выбору оптимальной суппозиторной основы, предназначенной для разработки состава и технологии интравагинальной лекарственной формы с антимикотическим средством. Изучено влияние поверхностно-активных веществ на технологические характеристики флуконазола при изготовлении суппозитория.

Ключевые слова: суппозитории, вагинальный кандидоз, флуконазол, биофармацевтические исследования, технология, поверхностно-активные вещества.

За последние десятилетия микозы, в частности, вагинальный кандидоз, стали распространенной клинической болезнью в гинекологии. Широкое использование новых медицинских технологий (интенсивной цитостатической и иммуносупрессивной терапии, трансплантации органов и тканей, инвазивных диагностических и лечебных процедур и пр.), пандемия ВИЧ-инфекции, а также успехи в лечении бактериальных и вирусных инфекций привели к увеличению популяции иммуноскопрометированных пациентов с высоким риском развития поверхностных и инвазивных (глубоких) грибковых инфекций [1].

Изучение литературы и ассортимента, представленных на фармацевтическом рынке лекарственных форм, используемых наружно для лечения интравагинальных инфекций, не оставляет сомнения, что одной из перспективных являются суппозитории. Они удобны для приема, безболезненны, компактны, действующее вещество в данной лекарственной форме проявляет минимум побочных эффектов, и при правильном выборе вспомогательных веществ они характеризуются высокой биодоступностью [2, 3]. Все вышперечисленные качества обуславливают популярность этой лекарственной формы в гинекологической практике. В связи с чем, целью нашего исследования является разработка состава суппозитория, обладающих противогрибковым действием, обоснование содержания в них активной субстанции и оптимальной основы для ее введения.

Среди групп современных синтетических антимикотических средств выделяются азолы, наиболее популярным представителем которых является флуконазол, использованный нами в качестве действующей субстанции в разрабатываемых суппозиториях [4]. При выборе терапевтической концентрации учитывали, что при создании лекарственных форм, предназначенных для интравагинального и ректального введения, как правило, руководствуются дозами, установленными для перорального применения. Соответственно этому, как в медицинской практике России, так и в других странах между пероральными и интравагинальными назначениями разовых и суточных доз у большинства препаратов разницы нет. Флуконазол, чаще всего, назначается внутрь в капсулах с дозировкой 150 мг. Учитывая вышесказанное, количество вводимого флуконазола на один суппозиторий также составило 150 мг.

На сегодняшний день в промышленном производстве суппозиториях применяют основы гидрофобного, гидрофильного и дифильного характера. В данной работе были использованы витепсол Н-15, комплексно-жировая основа (КЖО), полиэтиленоксидная (сплав ПЭО-400:ПЭО-1500 в соотношении 2:8), ГХМ-5Т, бутирол.

При изготовлении лекарственной формы руководствовались основными положениями статьи ГФ «Суппозитории» [5, с. 151]. Разрабатывая состав и технологию суппозитория с флуконазолом, учитывали природу и физико-химические свойства лекарственного вещества и основы. Суппозитории готовили методом выливания, ис-



пользуя формы с объемом гнезда 1,5 г. Предварительно, экспериментальным путем, был установлен обратный коэффициент замещения флуконазола (0,63), поскольку его содержание в суппозиториях превышало 5%.

Компоненты основ сложного состава сплавляли в фарфоровой чашке на водяной бане, с учетом их температур плавления, а витепсол – плавил. Флуконазол при изготовлении суппозиторной массы вводили по типу суспензии.

Одним из показателей качества суппозитория, содержащих нерастворимое ни в основе, ни в воде вещество, является степень его дисперсности. Она влияет на равномерность распределения вещества в суппозиторной массе, точность его дозирования, а также на процесс высвобождения и полноту проявления терапевтического действия лекарственного препарата в целом. Повлиять на данный показатель можно введением поверхностно-активных веществ (ПАВ), в качестве которых использовали твин-80 и бензалкония хлорид (БАХ). Дисперсологический анализ исходной субстанции, а также измельченной с ПАВ и введенной в суппозитории проводили с использованием оптического микроскопа марки МБУ-4А и окулярного микрометра при увеличении (15x8).

Установлено, что измельчение флуконазола с твином-80 или БАХ позволило уменьшить степень дисперсности вещества, по сравнению с первоначальной. Однако наиболее мелкодисперсная субстанция была получена при измельчении флуконазола с комплексным диспергирующим агентом, состоящим из твина-80 и бензалкония хлорида. Данное сочетание обеспечивает размер частиц субстанции до 30 мкм, с преобладанием фракции частиц до 10 мкм (75%-80%), что свидетельствует об удовлетворительной степени дисперсности лекарственного вещества.

Как отмечалось ранее, дисперсность действующего вещества влияет на точность и однородность его распределения в лекарственной форме. В связи с чем, в ГФ XII в общую фармакопейную статью на суппозитории предлагают ввести дополнительный показатель «Однородность дозирования» [6]. Учитывая это, осуществляли оценку качества суппозитория по указанному показателю, определяя в них количественное содержание флуконазола. Для проведения анализа был выбран спектрофотометрический метод как точный, достаточно быстрый, позволяющий совместить качественную и количественную оценку основного компонента. Выбор длины детектирования (261 нм) обусловлен присутствием специфического максимума в УФ-спектре субстанции. В качестве раствора сравнения использовали 0,1М раствор кислоты хлористоводородной. Расчет количественного содержания проводили относительно раствора стандартного образца.

Анализируя полученные относительные ошибки определения вещества в лекарственной форме, приготовленной на разных основах, сделали вывод, что введение ПАВ оказало положительное влияние на распределение и однородность флуконазола при изготовлении суппозиторной массы и в конечном продукте – в суппозиториях, независимо от применяемой основы. Несмотря на то, что содержание флуконазола в суппозиториях, изготовленных без твина-80 и бензалкония хлорида, соответствует требованиям нормативной документации, наблюдается неравномерность распределения флуконазола, что подтверждается достаточно высокой ошибкой определения антимикотика. Относительная ошибка определения флуконазола в суппозиториях, приготовленных с использованием ПАВ, на основах витепсол, ПЭО, КЖО, ГХМ-5Т, бутирол, была гораздо ниже ($\pm 0,71\%$, $\pm 0,80\%$, $\pm 1,54\%$, $\pm 1,27\%$ и $\pm 1,17\%$, соответственно) в сравнении с относительной ошибкой определения флуконазола в суппозиториях, не содержащих комплексный диспергатор ($\pm 2,89\%$, $\pm 2,87\%$, $\pm 3,90\%$, $\pm 3,76\%$ и $\pm 3,60\%$, соответственно).

Следующим этапом при разработке составов суппозитория с флуконазолом было определение спектра биоцидного действия лекарственной формы. Учитывая, что воспалительные заболевания половых органов сопровождаются ассоциациями грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, при введении БАХ в суппозиторные основы, как ПАВ, преследовали цель его использования в качестве антисептика. Известно, что в малых концентрациях он обладает активностью в отношении грамположительных кокков, грамотрицательных бактерий и грибов рода *S. albicans*. Также в фармацевтической технологии БАХ используют в качестве консер-



ванта лекарственной формы, обеспечивающего ее микробиологическую стабильность при хранении.

Противогрибковую активность суппозитория определяли методом диффузии в агаровый гель в отношении специфического тест-штамма *C. albicans* ATCC 885-653. Учитывая тот факт, что течение заболевания вагинального кандидоза сопровождается наличием микст-инфекции, для установления спектра действия лекарственного препарата дополнительно использовали тест-штаммы микроорганизмов: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 – P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Результаты микробиологического исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1

Антибактериальная активность модельных образцов суппозитория с флуконазолом ($p < 0,05$)

Вспомогательные вещества в составе суппозитория с флуконазолом	Зоны ингибирования роста тест-штаммов, мм					
	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	<i>St. aureus</i> ATCC 6538-P	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633
1. Витепсол	18,35±0,15	8,90±0,36	8,05±0,16	9,16±0,31	8,30±0,24	10,57±,61
2. Твин-80 Витепсол	19,47±0,18	10,03± 0,31	8,20±0,32	9,37±0,25	8,70±0,20	10,60±0,61
3. Бензалкония хл Витепсол	23,55±0,16	12,17±0,33	9,08±0,34	12,40±0,23	10,40±0,23	13,16±0,45
4. Твин-80 Бензалкония хл Витепсол	24,52±0,18	14,13±0,35	12,15±0,29	14,06±0,16	12,47±0,24	14,93±0,63
5. Сплав ПЭО	20,43±0,12	9,95±0,29	9,10±0,26	9,02±0,19	9,30±0,21	9,86±0,49
6. Твин-80 Сплав ПЭО	21,53±0,16	13,06±0,24	10,18±0,23	11,08±0,19	12,30±0,29	12,07±0,53
7. Бензалкония хл Сплав ПЭО	24,55±0,18	13,95±0,23	10,23±0,18	12,27±0,16	12,53±0,12	12,62±0,60
8. Твин-80 Бензалкония хл Сплав ПЭО	25,65±0,16	15,67±0,38	12,20±0,37	14,35±0,19	14,57±0,17	15,95±0,65
9. КЖО	15,62±0,27	8,02±0,58	9,00±0,35	9,05±0,30	8,10±0,35	8,88±0,54
10. Твин-80 КЖО	16,65±0,17	9,02±0,59	9,30±0,40	10,27±0,21	8,50±0,50	10,02±0,74
11. Бензалкония хл КЖО	20,46±0,26	10,07±0,55	10,13±0,34	10,37±0,32	10,30±,31	11,98±0,55
12. Твин-80 Бензалкония хл КЖО	21,72±0,20	13,20±0,47	12,12±0,28	11,30±0,35	11,40±0,29	13,88±0,67
13. ГХМ-5Т	15,21±0,35	7,67±0,35	8,99±0,53	8,15±0,30	8,27±0,38	8,11±0,35
14. Твин-80 ГХМ-5Т	15,99±0,21	8,13±0,66	9,79±0,68	8,96±0,23	9,67±0,42	8,75±0,32
15. Бензалкония хл ГХМ-5Т	19,31±0,25	9,54±0,47	10,23±0,41	10,10±0,45	9,45±0,36	9,99±0,68
16. Твин-80 Бензалкония хл ГХМ-5Т	19,78±0,22	11,11±0,55	12,11±0,34	10,99±0,23	11,37±0,21	11,87±0,54
17. Бутирол	15,57±0,32	7,92±0,47	9,07±0,45	8,30±0,32	8,10±0,33	8,02±0,33
18. Твин-80 Бутирол	16,47±0,25	8,07±0,69	10,05±0,45	9,03±0,27	9,20±0,31	8,86±0,44
19. Бензалкония хл Бутирол	19,40±0,23	9,03±0,38	10,00±0,41	10,18±0,34	9,29±0,34	10,28±0,68
20. Твин-80 Бензалкония хл Бутирол	20,50±0,29	11,20±0,51	12,17±0,46	10,58±0,15	11,30±0,13	12,05±0,68

Из данных, представленных в табл. 1, следует, что суппозитории с флуконазолом оказывают биоцидное действие на все взятые в эксперимент тест-штаммы микроорганизмов. Естественно, что более выраженные зоны ингибирования роста наблюдались в отношении тест-штамма *C. albicans* ATCC 885-653. Максимальное их значение



отмечено при диффузии флуконазола из суппозитория, приготовленного на основе витепсол и ПЭО. Измельчение лекарственного вещества с твином-80 и, в большей степени, с БАХ статистически достоверно усилило противогрибковое действие лекарственной формы. Однако наибольшие зоны задержки роста тест-микроорганизма получены при исследовании суппозитория, в состав которых флуконазол вводился при последовательном измельчении с БАХ, затем с твином-80.

В отношении остальных тест-штаммов микроорганизмов суппозитории, не содержащие в своем составе ПАВ, проявляют приблизительно одинаковую антибактериальную активность. Зоны ингибирования роста, в зависимости от исследуемой основы и тест-штамма, находятся в интервале от 8 мм до 10 мм. При введении ПАВ в лекарственную форму зоны задержки роста увеличиваются.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что последовательное измельчение флуконазола с бензалкония хлоридом и твином-80 при изготовлении суппозитория статистически достоверно повышает степень антибактериального и противогрибкового действия лекарственной формы, которое наиболее выражено у суппозитория, приготовленного на основе витепсол и ПЭО. Результаты эксперимента подтвердили также предположение об усилении антибактериального спектра действия суппозитория при сочетанном применении твина-80 и БАХ в измельчении флуконазола.

Выбор основы-носителя для изготовления суппозитория с флуконазолом осуществляли также при помощи биофармацевтических исследований, изучая процесс высвобождения лекарственного вещества в опытах *in vitro* методами диализа через полупроницаемую мембрану, и теста «Растворение».

При проведении метода диализа через полупроницаемую мембрану суппозиторий заворачивали в целлофановую пленку, предварительно замоченную в воде, очищенной в течение 30 мин, и опускали в сосуд, содержащий 50,0 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной. Диализ проводили в условиях термостата при температуре (37 ± 1) °С. Пробы диализата по 10,0 мл отбирали через 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 мин с момента начала эксперимента, восполняя взятые количества новыми порциями диализной среды. Флуконазол в диализате определяли в указанные промежутки времени методом спектрофотометрии в УФ-области при вышеуказанной длине волны. В качестве раствора сравнения использовали 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной.

Полученные результаты представлены на рис. 1 и 2, из которых следует, что значительную роль в процессе высвобождения антимикотика из лекарственной формы играет не только характер основы, но и присутствие в них ПАВ, изменяющих динамику этого процесса. Влияние ПАВ на профиль высвобождения лекарственного вещества отмечено во всех исследуемых основах.

Наиболее полное и быстрое высвобождение лекарственного вещества в диализат отмечено из суппозитория, приготовленного на гидрофильной полиэтиленоксидной основе, содержащей ПАВ. Максимальная концентрация была достигнута к 45 мин и держалась на одном уровне до конца эксперимента. Из основы высвободилось почти 100% флуконазола, в то время как из суппозитория, приготовленного на этой же основе, но без содержания твина-80 и БАХ, этот показатель равен 76,0%.

Второй по скорости и полноте высвобождения флуконазола является основа витепсол, содержащая сочетания ПАВ. На протяжении всего времени проведения эксперимента наблюдалось постепенное нарастание концентрации вещества в акцепторной среде. По завершению опыта в диализате его также было обнаружено около 100%. Процесс высвобождения флуконазола из суппозитория, приготовленного на этой же основе, но без предварительного диспергирования с ПАВ, достаточно медленный. За время эксперимента не достигнуто полноты высвобождения действующего вещества.

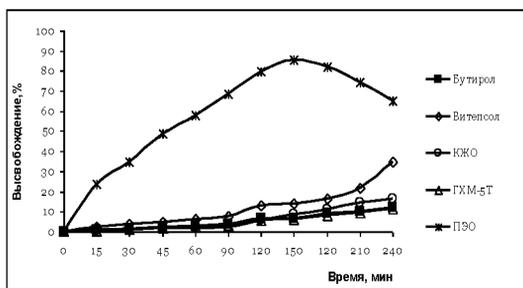


Рис. 1 Динамика высвобождения флуконазола из суппозиториях, не содержащих ПАВ

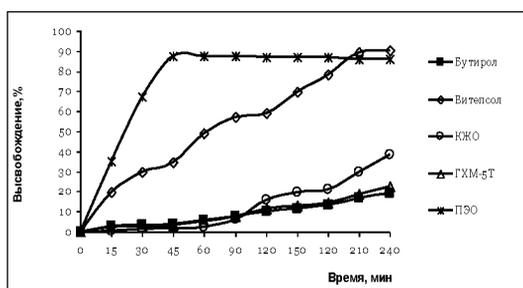


Рис.2 Динамика высвобождения флуконазола из суппозиториях, содержащих ПАВ

Самые низкие показания по интенсивности и полноте высвобождения субстанции установлены при анализе суппозиториях, изготовленных на гидрофобных основах бутирол, ГХМ-5Т и КЖО. При введении твина-80 с БАХ в основы конечная концентрация антимикотика в диализной среде увеличилась по сравнению с суппозиториями, не содержащими ПАВ, но полноты выхода так и не было достигнуто.

Таким образом, результаты, полученные методом диализа, свидетельствуют, что наиболее оптимальными для приготовления суппозиториях с флуконазолом являются полиэтиленоксидная основа и витепсол, содержащие в своем составе поверхностно-активные вещества твин-80 и БАХ.

Для изучения кинетических закономерностей высвобождения лекарственного вещества из изучаемых суппозиторных основ использовали дополнительный тест – «Растворение», который в последнее время довольно широко применяется в исследованиях *in vitro* [3]. Анализ проводили методом «Вращающаяся корзинка» с использованием тестера для проверки растворимости Егвека серии ДТ 606. В качестве акцепторной среды использовали 0,1М кислоту хлористоводородную, объем которой составлял 500 мл при скорости вращения корзинки 100 об/мин. Пробы по 10 мл отбирали через 5, 10, 15, 30, 45 минут с момента начала опыта. Взятые количества пробы восполняли новыми порциями среды растворения с температурой $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Результаты эксперимента представлены на рис. 3 и 4.

Установлено, что из суппозиториях, не содержащих ПАВ, наиболее быстрое и полное высвобождение флуконазола наблюдается из лекарственной формы, приготовленной на полиэтиленоксидной основе. К 10 мин эксперимента его содержание в акцепторной среде составляет около 80%, а к 15 мин – практически 100%. Динамика высвобождения вещества из основ витепсол, бутирол, КЖО и ГХМ-5Т практически одинакова. Наблюдается постепенное нарастание концентрации действующего компонента в среде растворения в течение всего времени эксперимента. Однако через 45 мин так и не достигается полнота его высвобождения.

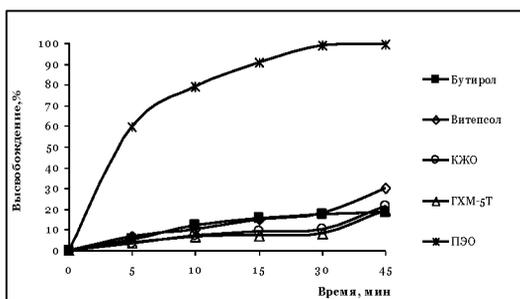


Рис. 3. Динамика высвобождения флуконазола из суппозитория, не содержащих ПАВ

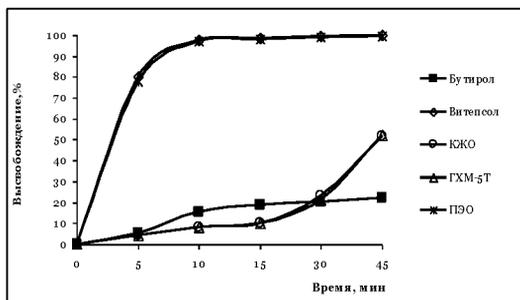


Рис. 4. Динамика высвобождения флуконазола из суппозитория, содержащих ПАВ

Наличие твина-80 и бензалкония хлорида в суппозиториях значительно повышает скорость высвобождения из них активного ингредиента, особенно из суппозитория, приготовленного на основе витепсол Н-15 и ПЭО. Содержание антимикотика в ацепторной среде этих суппозиториях в 9 и 1,2 раза больше, соответственно. Пик концентрации лекарственного вещества, высвобождающегося из них, отмечен к 10 минутам эксперимента, и содержание его составляет не менее 90%. (На рис. 4 кривые высвобождения флуконазола из суппозитория на основе витепсол и ПЭО практически совпадают). К 45 мин увеличивается содержание флуконазола из суппозитория на основе бутирол, КЖО, ГХМ-5Т, однако не отмечено полноты его высвобождения.

Результаты, полученные с использованием двух методов исследований, свидетельствуют, что оптимальным требованиям по высвобождению субстанции соответствуют полиэтиленоксидная основа и витепсол Н-15, в которые флуконазол вводился диспергированием с твином-80 и БАХ.

Таким образом, на основании результатов физико-химических, биофармацевтических, микробиологических и технологических исследований можно сделать вывод, что наиболее приемлемыми основами являются витепсол и полиэтиленоксидная, а оптимальным способом введения флуконазола – его диспергирование с БАХ и твином-80.

Используя фармакопейные и разработанные методики, осуществляли оценку качества суппозитория согласно НД по характеристикам: внешний вид, средняя масса и отклонения от нее, температура плавления, время полной деформации, значение величины рН водного извлечения, дисперсность флуконазола, его качественное и количественное содержание в суппозиториях. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Показатели качества суппозитория с флуконазолом

Основа	Температура плавления, °С	Значение рН	Время полн. деформ., мин	Время растворения, мин	Количественное содержание, г/супп.	Подлинность, значение Rf	«Растворение», %
Витепсол Н-15	35,8 – 36,3	7,0 – 7,5	12,5 – 13,5	-	0,1510 г	0,90	98,5%
ПЭО-400:ПЭО-1500 (2:8)	-	5,2 – 5,4	-	9,0 – 11,0	0,1531 г	0,91	99,1%



По внешнему виду суппозитории имеют одинаковую торпедовидную форму, однородные, белого цвета, с гладкой поверхностью (на продольном срезе отсутствуют вкрапления). Средняя масса 1,5 г, отклонение не превышало $\pm 5\%$. Время полной деформации, время растворения, температура плавления также соответствуют требованиям ГФ [5]. Размер частиц в суппозиториях не превышает 30 мкм. Содержание флуконазола в акцепторной среде при использовании прибора «Вращающаяся корзинка» через 30 минут должно составлять не менее 75% (Q). Количественное содержание флуконазола укладывается в допустимые нормы отклонений разработанной методики. Подлинность субстанции подтверждается методами УФ-спектрофотометрии, а также хроматографией в тонком слое сорбента.

Таким образом, результаты эксперимента позволили обосновать и разработать состав и технологию суппозиторий с флуконазолом, отвечающих требованиям НД и предназначенных для лечения вагинальных кандидозов.

Литература

1. Клишко, Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей / Н.Н. Клишко, 2-е изд. перераб. и доп. – М.: Ви Джи Групп, 2008. – 336 с.
2. Глембоцкая, Г.Т. Востребованность нового лекарственного препарата в форме вагинальных суппозиторий / Г.Т. Глембоцкая, И.В. Филатова, О.В. Козуб // Фармация. – 2010. – №2. – С. 31-33.
3. Панкрушева, Т.А. Суппозитории для лечения бактериального вагинита / Т.А. Панкрушева, С.Н. Зубова, О.А. Медведева, А.В. Нестерова, Ю.А. Козорез // Вестник ВГУ. Серия химия, биология, фармация. – Воронеж. – 2004. – №2. – С. 249-253.
4. Флуконазол. НД 42-12639-04.
5. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Лек. раст. сырье. – XI изд., доп. – М.: Медицина. – 1990. – Вып. 2. – 400 с.
6. Митькина, Л.И. Проект общей фармакопейной статьи суппозитории / Л.И. Митькина, Р.А. Лавренчук, В.Л. Багирова // Тез. докл. XVII Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство» (12-16 апреля 2010 г, Москва). – М., 2010. – С.532.

STUDIES ON THE DEVELOPMENT OF SUPPOSITORIES FOR THE TREATMENT OF VAGINAL CANDIDIASIS

T.A. Pankrusheva
T.V. Avtina
M.V. Pokrovsky
O.A. Medvedeva

Kursk State Medical University

e-mail: tatyanaavtina@yandex.ru

The results of the physicochemical, biopharmaceutical and technological studies on the choice of optimal suppository base, designed to develop composition and technology of intravaginal dosage form with the antimycotic agent. The effect of surfactants on the technological characteristics of fluconazole in the manufacture of suppositories.

Key words: suppositories, vaginal candidiasis, fluconazole, biopharmaceutical research, technology, surface-active substances.