



УДК 615.262:615.012.8:615.458

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА В ФОРМЕ СПРЕЯ ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Г.И. БОРЦЕВСКИЙ¹
Т.Г. ЯРНЫХ²

¹ПАО «Фармак»,
г. Киев, Украина

²Национальный
фармацевтический
университет, г. Харьков,
Украина

e-mail: thnfau@rambler.ru

В статье изложены данные о создании оригинального препарата фармакологической группы стимуляторов регенерации на основе концентрата депротеинизированного дермального слоя кожи свиней. Представлены результаты экспериментальных исследований по разработке технологии липосомального лекарственного препарата в форме спрея и установлению критических параметров его получения. На основании полученных данных разработана технология и определены критические параметры (температура; соотношение амплитуда/мощность при диспергировании и включении в липосомы пептидов) производственного процесса.

Ключевые слова: регенеративные процессы, нанопрепараты, липосомы, технология, спрей, критические параметры производства.

Важной проблемой современной медицины является лечение термических поражений кожи и ран различной этиологии [2, 4, 5]. Ограниченность отечественных средств в лечении ран различной этиологии требует разработки и внедрения в медицинскую практику новых лекарственных препаратов на основе наночастиц со специфическим механизмом действия и высокой биодоступностью. Данная область исследований относится к одному из основных направлений современной нанобиотехнологии [1, 9].

Перспективным в данном аспекте, является создание оригинального препарата фармакологической группы стимуляторов регенерации на основе концентрата депротеинизированного дермального слоя кожи свиней, состав которого защищен патентом Украины [6]. По фармакологическому действию разрабатываемый препарат является тканеспецифическим стимулятором регенерации и влияет на репарацию кожных покровов. Показаниями к его применению являются трофические язвы, передгангрена на фоне заболеваний периферических сосудов (диабетическая ангиопатия, варикозное расширение вен), незаживающие раны, пролежни, химические и термические ожоги, отморожения, лучевой дерматит, язвы кожи [3].

В настоящее время хорошо известны наноструктуры, которые могут быть использованы как носители лекарственных препаратов: полимерные наночастицы, липосомы, нанодисперсии из масла и воды, циклодекстрины, твердые липидные наночастицы и др [7, 10, 11]. В нашей работе для транспортировки лекарственных веществ были использованы традиционные липосомы, состоящие из липидного компонента и активной фармацевтической субстанции.

Цель. Целью данной работы является разработка технологии липосомального лекарственного препарата в форме спрея и определение критических параметров производственного процесса его получения.

Материалы и методы. В состав лекарственного препарата в качестве активно действующего вещества входит концентрат депротеинизированного дермального слоя кожи свиней. Это низко – молекулярный комплекс физиологически активных веществ (пептиды, фосфолипиды, углеводы, свободные аминокислоты, микроэлементы), выделенный из дермального слоя кожи свиней, полученный кислотной экстракцией. Он представляет собой прозрачную жидкость желтоватого цвета, рН 4,0–5,5. Концентрат содержит низкомолекулярные пептиды в количестве не меньше 1,5 мг/мл, углеводов не меньше 0,2 мг/мл и сухого остатка не меньше 3%. Молекулярная масса пептидов в комплексе не больше 10 кДа.

Основной компонент липидного бислоя липосом – фосфолипиды, которые являются главными структурными компонентами биологических клеточных мембран. В нашем случае, для получения липосом использовали фосфатидилхолин из соевых бобов- LIPOID S 100.

Результаты. Использование липосом уменьшает концентрацию свободных препаратов в кровотоке и препятствует их быстрому выведению почечной системой, что, в свою очередь, уменьшает токсичность субстанции и усиливает её терапевтический эффект за счет улучшения фармакокинетики и биораспределения. На терапевтическую активность липосом как средства доставки лекарственного вещества большое влияние оказывает ее размер, строение липидного слоя и соотношение лекарственное вещество- липид. От размеров липосом и продолжительности их обработки ультразву-



ком зависят концентрация лекарственных веществ, включенных в них и их распределение в организме.

От метода получения фосфатидилхолина зависит его жирнокислотный состав, который может влиять на размер липосом в процессе технологии. Физико-химические свойства и химический состав фосфатидилхолина представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Физико-химические свойства фосфатидилхолина – LIPOID S

Цвет	Светло-желтый
Органолептические свойства (запах)	типичный
Консистенция	грубодисперсные агломераты
Растворимость (5% раствор)	
Вода 20 °С	диспергируется*
Этанол 20 °С	легко растворим
Углеводороды 20 °С	легко растворим
Хлорированные углеводороды 20 °С	легко растворим
Парафин 60 °С	легко растворим

Примечание: * – Прозрачный на основе воды раствор может быть получен специальными процедурами

Таблица 2

Химический состав фосфатидилхолина – LIPOID S 100

Показатель	Спецификация
Фосфатидилхолин (в пересчете на безводное вещество)	Не менее 94,0
Другие природные компоненты присутствующие в лецитине соевых бобов	
N-Ацетил-фосфатидилэтанолламин	Не более 0,5
Фосфатидилэтанолламин	Не более 0,1
Фосфатидилинозитол	Не более 0,1
Лизофосфатидилхолин	Не более 3,0
Неполярные липиды	Не более 3,0
Триглицериды	Не более 2,0
Свободные жирные кислоты	Не более 0,5
DL-α-токоферол	0,15-0,25

Технология липосом заключается в образовании липидной пленки липоида и получении суспензии липосом. При получении липидной пленки из спиртового раствора – LIPOID S 100 изучали интенсивность и время перемешивания. При температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ экспериментально были подобраны значения достаточные для полного растворения LIPOID S 100. Получение липидной пленки осуществляли в роторном испарителе порционно. При выбранной температуре и давлении выпаривали всю жидкость до образования сухой липидной пленки на стенках колбы. Были установлены критические параметры: скорость вращения колбы, температура бани и вакуум достаточные для образования липидной пленки. Время испарения спирта и герметичность системы подбирали таким образом, чтобы они были достаточны для предотвращения образования примеси лизофосфатидилхолина.

Далее получали суспензию липосом большого размера. В процессе получения липосом изучали скорость вращения колбы, температур у бани и вакуума. Экспериментально были подобраны их параметры достаточные для образования суспензии крупных липосом. Время диспергирования и герметичность системы достаточные для предотвращения примеси лизофосфатидилхолина. Все порции суспензии липосом большого размера объединяли в реакторе и передавали на операцию получения липосом размером 120 – 140 нм.

Суспензию липосом размером 120-140 нм получали методом ультразвукового диспергирования. Ранее нами экспериментально были установлены критические параметры, которые оказывают прямое влияние на размер липосом и выбраны оптимальные условия их получения методом высокого давления [8].



Технологический процесс получения липосом для препарата «Эфиаль» должен обеспечивать содержание фосфатидилхолина в пределах 90-110 мг/мл, лизофосфатидилхолина – не более 6 мг/мл. Данные представлены в табл. 3.

Таблица 3

Оптимальные условия получения липосом

Количество липоида г/л	Количество растворенного липоида г/л	Количество примесей (лизофосфотидилхолин)	Содержание примесей в липоиде
1	2	3	4
5,0	5,0	0,4	0,42
7,5	7,5	0,4	0,42
10,0	10,0	0,4	0,44
12,5	12,0	0,4	2,50

Процесс включения действующего вещества в липосомы был проведен в реакторе с ультразвуковым диспергированием с проточной кюветой. Экспериментально определяли необходимые параметры (мощность, амплитуду, время и температуру). Процесс контролировали измерением количественного содержания лизофосфатидилхолина и количественного содержания включенных пептидов в липосомы. Данные приведены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4

Оптимальные технологические параметры получения липидной пленки

Название параметра	Нормирование
Количество липоида, мг/мл	10,0
Температура, °С	30-50
Вакуум, мБар	10-12
Содержание этилового спирта в готовом препарате не более 5 мг/мл	Не более 15
Примеси (лизофосфотидилхолин), мг/мл	Не более 6

Таблица 5

Параметры ультразвукового диспергирования

Мощность диспергирования, %	Амплитуда диспергирования, %	Размер частиц, н/м	Примеси лизофосфатидилхолин, мг/мл
60	60	300-320	3,5
60	30	120-140	1,4
30	60	180-200	3,4

Подобранные параметры были оптимальными для включения низкомолекулярного пептидного комплекса в липосомы и достаточные для предотвращения образования примеси лизофосфатидилхолина и гидролиза низкомолекулярного пептидного комплекса (табл. 6).

Таблица 6

Оптимальные технологические параметры включения белка в липосомы

Название параметра	Нормирование
Температура, °С	10-25
Амплитуда, %	60
Мощность, %	30
Примеси (лизофосфотидилхолин), мг/мл	Не более 6
Количество включенного белка, мг/мл	Не менее 0,12

Обсуждение результатов. На основе экспериментальных исследований, используя липосомальную технологическую платформу, при разработке спрея были подобраны вспомогательные вещества: стабилизатор, антимикробные консерванты, растворитель. Для получения стабильной лекарственной формы в качестве таковых были выбраны: глицин кристаллический, пропилпарагидроксибензоатнатриевая соль, метилгидробензоат натриевая соль.



Технологию препарата разрабатывали с учетом физико-химических свойств компонентов, входящих в состав лекарственной формы. Критическими параметрами технологического процесса получения препарата – спрей для наружного применения являются: содержание примесей (лизофосфотидилхолинна – не более 6 мг/мл и содержание суммарной пептидной фракции – не менее 0.12 мг/мл) в готовом препарате, содержание этилового спирта – не более 5 мг/мл.

Суспензию липосом фильтровали через фильтры с размером пор 0,45 и 0,2 мкм в реактор и разливали в стеклянные флаконы по 20 мл, закупоривали спрейными насадками. На данной стадии определяли точность дозирования, температуру раствора и качество укупорки. Для контроля критических параметров производства были разработаны соответствующие технологические инструкции.

В процессе разработки состава и технологии спрея были наработаны и проведены доклинические фармакологические исследования, которые показали, что препарат при местном применении проявляет регенеративное ранозаживляющее действие (3).

Выводы. Таким образом, в результате проведенных исследований разработана рациональная технология и определены критические параметры производственного процесса липосомального препарата в форме спрея для наружного применения на основе депротеинизированного дермального слоя кожи свиней и фосфатидилхолина из соевых бобов. Критическими параметрами, влияющими на образование примесей являются: температура; соотношение амплитуда / мощность при диспергировании и включении в липосомы пептидов. На образование примесей не влияет скорость и время перемешивания при растворении вспомогательных веществ.

Литература

1. Баллюзек Ф.В. Нанотехнологии для медицины / Ф.В. Баллюзек, А.С. Кураев. – Л.Сенте: Санкт-Петербург. – 2008. – 103 с.
2. Бігуняк В.В. Термічні ураження / В.В. Бігуняк, М.Ю. Повстяний.- Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 195 с.
3. Борщевський Г.І., Лісничук Н.Є. та ін. Ранозагоювальна дія препарату «Ефіаль» // Фарм.часопис. – 2013. – №3. – С. 29-34.
4. Некоторые вопросы патогенеза и патоморфологии ожогового шока / Р.В. Вашетко, В.А. Ильина, Е.А. Бородай, М.М. Ермолаева // Скорая медицинская помощь. – 2006. – Т. 7. – № 3. – С. 48 – 49.
5. Ожоговая интоксикация / Г.П. Козинец, С.В. Слесаренко, А.П. Радзиховский и др.-К.: Феникс, 2004. – 265 с.
6. Патент №101235, Україна А 61 К 9/127, А 61 К 31/56, А 61 Р 17/06. Спосіб отримання фармацевтичної композиції ранозагоючої та регенеруючої дії на основі пептидів дермального шару шкіри свиней / Ф.І. Жебровська, Г.В. Костюк, Г.І. Борщевський, М.І. Борщевська, В.В. Бігуняк, № а201107335; заявл. 10.06.2011; опубл. 11.03.2013, Бюл. № 5.
7. Стандартизація липосомальних лікарських засобів / Борщевський Г.І., Товмасян Е.К., Краснопольський Ю.М., Гризодуб А.І.// Фармаком.- № 2 – 2013.- С. 5 – 11.
8. Физико-химическое обоснование способа получения многокомпонентного липосомального препарата / Борщевский Г.И., Ярных Т.Г. // Вісник Фармації.- № 3.- 2013.- С. 5-7.
9. Abra R. M., Bankert R. B., Chen F. et al. The next generation of liposome delivery systems: recent experience with tumor-targeted, sterically-stabilized immunoliposomes and active-loading gradients // J. Liposome Res. – 2002. – Vol. 12. – P. 1–3.
10. Francesco M. Veronese Peptide and protein PEGylation : a review of problems and solutions // Biomaterials. – Vol. 22. – Issue 5, 1 March 2001. – P. 405–417.
11. Negative fluid balance predicts survival in patients with septic shock / Alsous F., Khamees M., De Girolamo et al. // Crit.Care. – 2000. – Vol. 117. – P. 1749 – 1754.

DEVELOPMENT TECHNOLOGY OF LIPOSOMAL FORMULATIONS IN THE FORM OF SPRAYS FOR EXTERNAL APPLICATION

G.I. BORSHCHEUSKIY¹
T.G. YARNYKH²

¹«Farmak», Kyiv

²National University of Pharmacy, Kharkov

e-mail: tlnfau@rambler.ru

The article presents data on the creation of original drug pharmacological group stimulants regeneration based concentrate deproteinised dermal layer of the skin of pigs. the results of experimental studies on the development of technology liposomal drug in spray form and the identification of critical parameters of its receipt have been presented. Based on these data the technology and critical parameters (temperature, the ratio of the amplitude/power by dispersing and inclusion in liposomes peptides) in the manufacture of the drug were developed.

Keywords: regenerative processes, nanopreparations, liposome, technology, spray, critical production parameters.