

УДК 615.28:[616.6 + 616.5

РАЗРАБОТКА СОСТАВА, ТЕХНОЛОГИИ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СУППОЗИТОРИЕВ С ОФЛОКСАЦИНОМ

© 2003 г. Т.А. Панкрушева, Е.А. Рудько, А.В. Нестерова, О.А. Медведева, М.С.Чекмарева

Курский государственный медицинский университет

Офлоксацин – новый синтетический противомикробный препарат группы фторхинолонов, обладающий широким спектром противомикробного действия. Изучена возможность создания новой для офлоксацина лекарственной формы – суппозитория для лечения инфекционных урогенитальных заболеваний.

Теоретически и экспериментально обоснованы составы и технология суппозитория с офлоксацином, проведена оценка их качества. Установлено, что полученные суппозитории соответствуют требованиям нормативной документации.

ВВЕДЕНИЕ

Современный этап развития клинической гинекологии и урологии характеризуется определенными успехами в области профилактики и лечения инфекционных урогенитальных заболеваний. Тем не менее, применяемые в настоящее время лекарственные средства не дают возможности полностью решить вопросы терапии инфекционных поражений.

В последние годы достаточно надежными и эффективными зарекомендовали себя новые синтетические антимикробные препараты группы фторхинолонов (в частности – офлоксацин) с принципиально отличным от существующих антибиотиков механизмом антимикробного действия – ингибированием ДНК-гиразы микробной клетки и нарушением биосинтеза ДНК бактерий, оптимальными фармакокинетическими и фармакодинамическими характеристиками [4,5,6].

На основании вышеизложенного, целью исследования является экспериментальное обоснование и разработка составов, технологии и оценка качества суппозитория для лечения урогенитальных заболеваний, содержащих в качестве основного компонента – офлоксацин.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Суппозитории готовили методом выливания, используя в качестве основ широко применяемые при серийном производстве витепсол и сплав ПЭО-400 и ПЭГ-1500 в соотношении 2:8. Офлоксацин, в количестве 0,2 г, вводили в суппозиторную основу по типу суспензии. Учитывая, что содержание офлоксацина в суппозиториях составляет более 10%, экспериментально был опреде-

лен фактор замещения для вещества по отношению к основе, который составил 0,7.

Оценку качества приготовленных суппозитория проводили в соответствии с существующей нормативной документацией.

У суппозитория, приготовленного на липофильной основе, определяли время полной деформации и температуру плавления, на гидрофильной основе – время растворения (ГФХI изд. 1990, вып.2.).

Значение рН водного извлечения из суппозитория определяли потенциометрически на иономере универсальном ЭВ 74 (ГФ ХI изд. 1990, вып.2).

Для количественного анализа офлоксацина в суппозиториях разработана спектрофотометрическая методика. Офлоксацин извлекали из суппозитория 0,1М раствором кислоты хлороводородной. Путем последовательного разведения готовили 0,0008% раствор исследуемого вещества в 0,1М растворе кислоты хлороводородной и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре в максимуме спектра поглощения при длине волны 294 нм в кювете с толщиной слоя 1 см [1].

Идентификацию офлоксацина в суппозиториях осуществляли: спектрофотометрическим методом в УФ-области, и методом тонкослойной хроматографии.

При использовании спектрофотометрического метода оптическую плотность 0,001% раствора офлоксацина из суппозиторной вытяжки в 0,1М растворе кислоты хлороводородной, определяли относительно вытяжки из суппозитория-плацебо в области от 190 до 360 нм.

Хроматографические исследования проводили на пластинках «Kieselgur» F252 20*20 см («Merk», Германия), «Kieselgel» TLC 20*20 см

(«Merk», Германия), «Sorbfil» ПТСХ-АФ-В-УФ 10*10 см для ВЭТСХ(ЗАО «Сорбполимер», РФ). На пластину наносили 0,001% раствор ацетонового извлечения офлоксацина из суппозиториев и раствор стандартного образца в ацетоне. Хроматографирование выполняли восходящим способом в различных системах растворителей.

Биофармацевтические исследования, связанные с изучением процесса высвобождения офлоксацина из суппозиториев различного состава, проводили *in vitro* 3-мя методами: метод диализа через полупроницаемую мембрану, «вращающаяся корзинка» (тест растворения), метод диффузии в агар[2,3,7]. В первых двух случаях в качестве диализной среды использовали 0,1М раствор кислоты хлороводородной. Испытания проводили в условиях термостата, при температуре (37±1)°С. Забор проб осуществляли через каждые 15 мин в течение 6 час с восполнением диализной среды. Содержание офлоксацина в пробах определяли спектрофотометрически.

Высвобождение офлоксацина из суппозиториев методом диффузии в агар проводили на тест-штампах бактерий *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25922), *Ps. aeruginosa* (ATCC 9207) , *B. subtilis* (ATCC 6633).

Взвесь тест-микробов для посева на чашки Петри готовили по стандарту мутности на 10 ЕД. В качестве посевного материала использовали суточные культуры, содержащие по 1 млрд клеток. Взвесь каждого вида микроорганизма засеивали на чашку Петри. Расплавленную суппозиторную массу 0,1 г помещали в центр цилиндра стандартного образца на засеянную питательную среду. В качестве сравнения использовали водную суспензию стандартного образца офлоксацина. Исследования проводили в течение 18 час при температуре (37±1)°С.

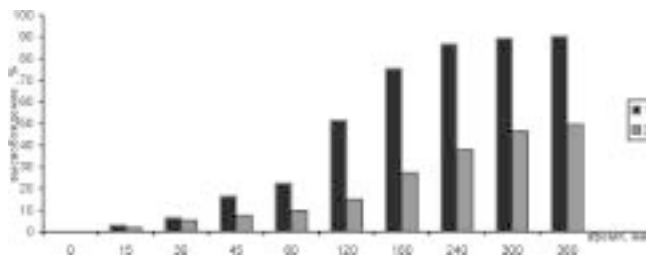


Рис. 1 Влияние основ на высвобождение офлоксацина из суппозиториев (метод диализа)

Примечание: 1-сплав ПЭО-400 и ПЭГ-1500 (2:8); 2-витепсол

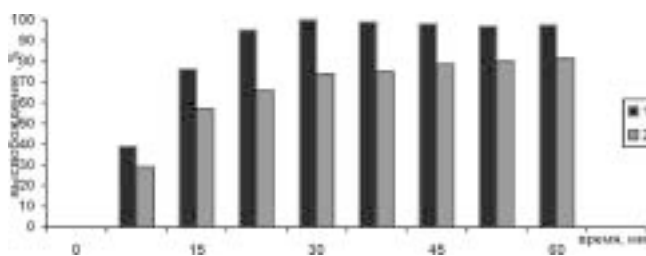


Рис. 2 Влияние основ на высвобождение офлоксацина из суппозиториев (метод «вращающаяся корзинка»)

Примечание: 1- сплав ПЭО-400 и ПЭГ-1500 (2:8); 2-витепсол

Дисперсионный анализа офлоксацина в суппозиториях изучали микроскопическим методом. [2]

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При выборе суппозиторной основы руководствовались результатами исследования, полученными при изучении процесса высвобождения офлоксацина методом диализа через полупроницаемую мембрану, тестом «вращающаяся корзинка» и методом диффузии в агар.

Результаты высвобождения офлоксацина методом диализа через полупроницаемую мембрану представлены на рис.1 Установлено, что наиболее быстрое и полное высвобождение вещества

Таблица 1

Влияние основ на высвобождение офлоксацина из суппозиториев (метод диффузии в агар)

№ п/п	Исследуемые образцы	Зоны ингибирования роста тест-штаммов, мм			
		<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>St. aureus</i> ATCC 6538-P	<i>E. coli</i> ATCC 25922
1.	Офлоксацин ПЭО – 400 ПЭГ – 1500	35	34	34	35
2.	Офлоксацин Витепсол	36	36	35	35
3.	Водная суспензия офлоксацина-субстанции (контроль)	42	40	37	42

происходит из суппозиторий на основе сплава ПЭО-400 и ПЭГ-1500, за 240 мин высвобождается 87 % вещества. Из суппозиторий на основе витепсол процесс высвобождения пролонгирован, за это же время эксперимента высвободилось 37 % офлоксацина.

Динамика процесса высвобождения офлоксацина с использованием теста «растворение» представлена на рис.2. Результаты, полученные этим методом подтверждают данные предыдущего исследования. Из суппозиторий на основе сплава полиэтиленоксидов через 30 мин в среду растворения перешло 99 % лекарственного вещества, из суппозиторий на основе витепсол за это же время – 73 %.

Результаты высвобождения офлоксацина из суппозиторий методом диффузии в агар представлены в табл.1. Анализ зоны задержки роста микроорганизмов свидетельствует о совместимости офлоксацина с исследуемыми основами и о достаточно высокой антибактериальной активности лекарственного вещества в суппозиториях.

Как известно, биофармацевтическая доступность из суппозиторий во многом определяется размером частиц дисперсной фазы и наличием вспомогательных веществ[7]. Результаты дисперсионного анализа исходной субстанции, представленные на диаграмме (рис.3), показали, что преобладают частицы размером до 20 мкм (88 %). С целью уменьшения размера частиц проведено дополнительное измельчение офлоксацина *per se*, с жидко-

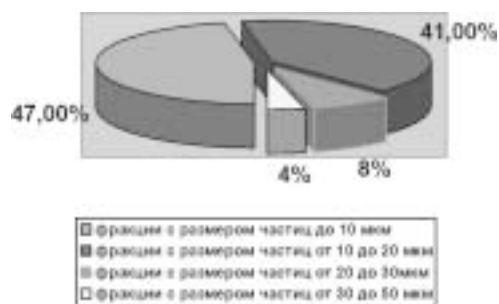


Рис. 3 Фракционный состав исходной субстанции офлоксацина (%) (до измельчения)

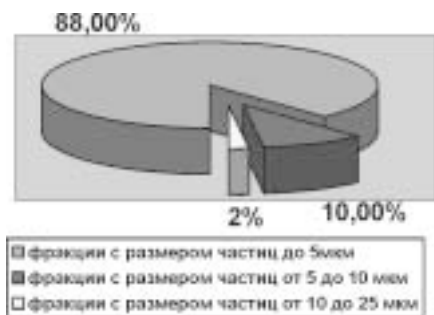


Рис.4 Фракционный состав субстанции офлоксацина (%) после измельчения (без вспомогательных веществ)

стями, имеющими сродство с основами (вазелиновое масло, вода очищенная), а также с широко используемыми пенетрантами – поверхностно-активными веществами: твин-80, натрий лаурилсульфат в различных концентрациях. Установлено, что независимо от используемого диспергирующего агента в суппозиториях, преобладают фракции частиц офлоксацина до 5 мкм (88 %), рис. 4.

Результаты изучения динамики процесса высвобождения офлоксацина *in vitro* от степени его дисперсности позволили сделать вывод, что предварительное измельчение лекарственного вещества в сухом виде или со вспомогательными жидкостями ведет к незначительному повышению его биофармацевтической доступности. На рис. 5 отображен процесс высвобождения офлоксацина неизмельченного и измельченного *per se* из изучаемых суппозиторных основ.

Диспергирование субстанции с натрий лаурилсульфатом снижало высвобождение офлоксацина из суппозиторий. Оптимальные результаты по влиянию на процесс высвобождения лекарственного вещества из обеих основ отмечены при введении твина-80, в концентрации 3% (рис. 6). Однако включение твина-80 в состав суппозиторий

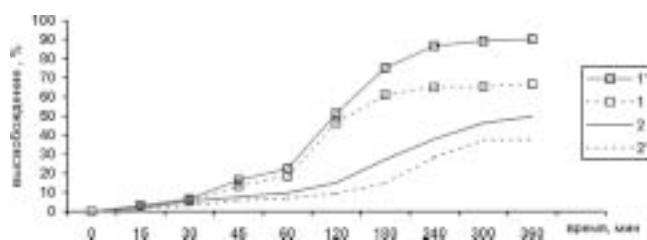


Рис. 5 Влияние степени дисперсности офлоксацина на высвобождение из суппозиторных основ (метод диализа)

Примечание: 1- измельченная субстанция + ПЭО-основа; 1*- неизмельченная субстанция + ПЭО-основа; 2- измельченная субстанция + витепсол; 2*- неизмельченная субстанция + витепсол

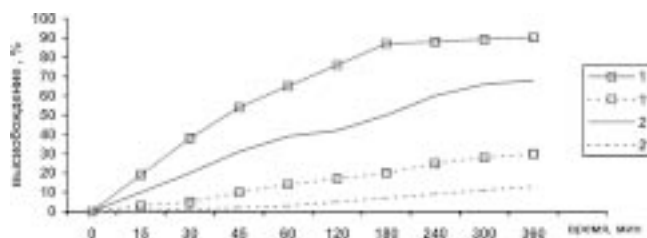


Рис. 6 Влияние твина-80 и натрий лаурилсульфата на высвобождение офлоксацина из суппозиторных основ (метод диализа)

Примечание: 1-офлоксацин+твин-80 + ПЭО-основа; 1*- офлоксацин+натрий лаурилсульфат + ПЭО-основа; 2- офлоксацин+твин-80+витепсол; 2*- офлоксацин+натрий лаурилсульфат+витепсол

на полиэтиленоксидной основе приводило к ухудшению их внешнего вида и структурно-механических свойств.

С целью исправления появившегося недостатка в эти суппозитории вводили аэросил в концентрациях 1%, 2%, 3%. Использование аэросила в концентрации 2% позволило получить суппозитории отвечающие требованиям НД.

Таким образом, в результате проведенных биофармацевтических исследований нами предложены следующие составы суппозиториев, из расчета на одну свечу массой 1,5 г:

I	офлоксацина	0,2	II	офлоксацина	0,2
	твина 80	0,045		твина 80	0,045
	аэросила	0,015		витепсола	1,25
	ПЭО-400	0,25			
	ПЭГ-1500	0,991			

Технологическая схема получения суппозиториев состоит из следующих стадий:

1-ая стадия. Подготовка исходных веществ: отвешивание лекарственных и вспомогательных веществ, плавление основы.

2-ая стадия. Приготовление суппозиторной массы: введение лекарственного и вспомогательных веществ в основу, гомогенизация, оценка качества суппозиторной массы.

3-я стадия. Дозирование суппозиторной массы и формование суппозиториев. Стандартизация.

4-ая стадия. Фасовка, упаковка, маркировка.

Показатели качества разработанных и приготовленных суппозиториев представлены в табл. 2. Суппозитории имели торпедовидную форму, однородные на разрезе, белого цвета с желтоватым оттенком, средняя масса 1,5 г, отклонение от средней массы не превышало $\pm 5\%$.

Для идентификации офлоксацина в суппозиториях использовали: спектрофотометрический метод в УФ-области и метод тонкослойной хроматографии.

УФ-спектр 0,001% раствора офлоксацина из суппозиторной вытяжки в 0,1М растворе кислоты хлористоводородной имел максимумы поглощения при длине волны 226 ± 2 и 295 ± 2 нм и минимум поглощения – при 265 ± 5 нм, рис. 7. [1]

Результаты идентификации офлоксацина в суппозиториях методом ТСХ представлены в табл.3.

Количественный анализ офлоксацина спектрофотометрическим методом показал, что его содержание в суппозиториях находится в пределах от 0,190 г до 0,210 г. Относительная ошибка используемого метода составила на основе сплава полиэтиленоксидов $\pm 1,73\%$; на основе витепсол $\pm 1,32\%$.

Таким образом, на основании полученных результатов установлена возможность создания суппозиториев с офлоксацином на основе витепсола и сплава полиэтиленоксидов, качество которых соответствует требованиям нормативной документации.

Таблица 2

Показатели качества суппозиториев с офлоксацином

Основа	Внешний вид	Значение pH	Время раств., мин	t° пл., $^{\circ}\text{C}$	Время полн.деф., мин
ПЭО-400 ПЭГ-1500 сплав(2:8)	Однородные белого цвета, с желтоватым оттенком	7,0-7,8	9	-	-
Витепсол		7,4-8,0	-	36,4	9

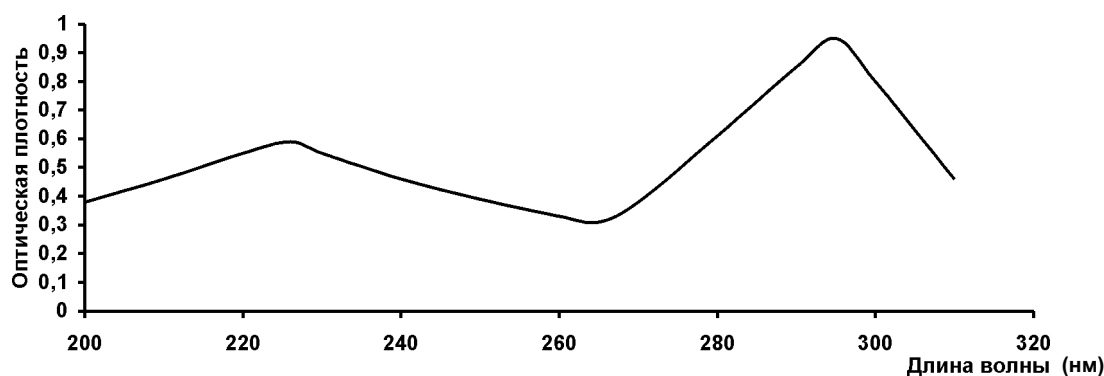


Рис.7 Определение подлинности офлоксацина в суппозиториях спектрофотометрическим методом

Определение подлинности офлоксацина в суппозиториях методом ТСХ

Хроматографические пластины	Системы растворителей	Значение R _f
Sorbfil	хлороформ-метанол-концентрированный аммиак (2:2:1)	0,84
Kieselgel	хлороформ-метанол-концентрированный аммиак (2:2:1)	0,85
Sorbfil	хлороформ-этанол- концентрированный аммиак (11:11:5)	0,75
Kieselgel	хлороформ-этанол- концентрированный аммиак (11:11:5)	0,75
Kieselgur	хлороформ-этанол- концентрированный аммиак (12:17:1)	0,75
Kieselgur	хлороформ-этанол-ледяная уксусная кислота (7:3:1,5)	0,92
Kieselgur	хлороформ-этанол (18:2)	0,77

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Временная фармакопейная статья. Офлоксацин, стандартный образец. ВФС 42-3555-99

2. Государственная фармакопея СССР: 11-е изд.: Вып.2 / МЗ СССР.- М.: Медицина, 1990.

3. *Курилова, О.О.* Разработка составов, технологии и исследование суппозиторий с анаприлином: Дис. ... канд.фарм.наук: 15.00.01 / О.О.Курилова.- Защищена 2000г. Курск.-143 с.

4. *Машковский, М.Д.* Лекарственные средства / М.Д. Машковский. -М.: ООО «Новая волна». 2001.-412.

5. *Падейская, Е.Н.* Таривид – высокоэффективный антимикробный препарат широкого спектра действия / Е.Н.Падейская // ТОП-медицина.- 1997.- №2. С.22-25.

6. *Падейская, Е.Н.* Фторхинолоны и их значение в современной химиотерапии инфекционных заболеваний / Е.Н.Падейская // Антибиотики и химиотерапия – 1989.-№7. с.514-521.

7. *Тенцова, А.И.* Тенденции и перспективы развития биофармацевтических исследований / А.И.Тенцова, Г.С.Киселева // Фармация.- 1993. №6.- С.43-45.