

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ОСАЖДЕНИЯ И ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ВИНПОЦЕТИНА ИЗ СИСТЕМЫ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ВЕЩЕСТВА НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ПОРИСТОГО КРЕМНИЯ

Ю. А. Полковникова<sup>1</sup>, А. С. Леньшин<sup>1</sup>, П. В. Середин<sup>1</sup>, Д. А. Минаков<sup>2</sup>, Е. В. Третьякова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

<sup>2</sup> Военный учебно-научный центр ВВС «Военно-воздушная академия  
им. проф. Н. Е. Жуковского и Ю. А. Гагарина»

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»

Поступила в редакцию 19.05.2016 г.

**Аннотация.** В результате исследований изучен процесс сорбции винпоцетина на пористый кремний, полученный двусторонним анодным электрохимическим травлением монокристаллического кремния. Установлено отсутствие влияния лекарственного вещества на состав поверхности пористого кремния. Проведенные сравнительные исследования степени высвобождения винпоцетина из полученных систем доставки и микрокапсул показали возможность использования наночастиц в качестве средства пролонгированной доставки и перспективность дальнейших фармакологических исследований.

**Ключевые слова:** винпоцетин, наночастицы, системы доставки, пористый кремний, фотолюминесценция, сорбция, высвобождение

**Abstract.** The process of sorption of vinpocetine onto porous silicon was investigated in the work. Using double-sided electrochemical etching of single-crystalline silicon the samples of porous silicon. It was found that the structure of porous silicon did not undergo the effect of the pharmaceutical substance. Comparative investigations made in order to study a degree of release of and vinpocetine from the obtained microcapsules and delivery systems demonstrated a possibility of the use of nanoparticles as a mean of durable drug delivery as well as the prospects of the further pharmacological investigations.

**Keywords:** vinpocetine, nanoparticles, delivery systems, porous silicon, photoluminescence, sorption, release

Успешные зарубежные и отечественные исследования, проведенные в последние десятилетия, позволили разработать многочисленные инновационные подходы к адресной доставке лекарственных средств в ЦНС [1]. На сегодняшнем этапе развития нейропсихофармакологии особенно перспективным представляется применение нанотехнологических подходов, позволяющих создавать многофункциональные высокоселективные наносистемы, способные доставлять транспортируемый агент сначала в церебральные микрососуды, а затем в интерстициальную жидкость и непосредственно к клеткам-мишеням в головном мозге [2].

Одним из новых перспективных направлений для создания носителей являются наночастицы

[3, 4]. Они представляют собой универсальную систему для доставки лекарственных веществ, высвобождение которых может происходить как с поверхности наночастицы, так и из всей массы в результате ее распада.

Ввиду своей биосовместимости и технологичности, перспективной основой для данной системы доставки являются наночастицы пористого кремния [5-8]. Исходя из достоинств пористого кремния, его использование в качестве системы доставки такого перспективного лекарственного вещества, как винпоцетин, позволит повысить эффективность лечения больных с различными видами заболеваний центральной нервной системы [9].

Цель работы – получение образцов пористого кремния, создание на его основе наночастиц с винпоцетином и сравнительные исследования полученных образцов.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В экспериментальных исследованиях использованы в качестве активной фармацевтической субстанции 2-этил-(Зальфа,1бальфа)-эбурнаменин-14-карбоксилат (винпоцетин) (рис.1) и вспомогательные вещества, разрешенные к медицинскому применению и отвечающие требованиям нормативной документации.



Рис. 1. Структурная формула винпоцетина

Такие характеристики нанопорошков кремния, как атомное строение, величина удельной поверхности и морфология, зависят от условий получения и последующей обработки порошков. Известно несколько способов получения нанопорошков кремния и оксида кремния, например, путем абляции кристаллических пластин кремния импульсным лазерным излучением, методом пиролиза газа моносилана и др. В настоящей работе нами изучена электрохимическая методика получения порошков из пористого кремния.

Образцы пористого кремния были получены двусторонним анодным электрохимическим травлением полированных с обеих сторон пластин монокристаллического кремния в растворах плавиковой кислоты в режиме постоянного тока с последующей промывкой в дистиллированной воде и изопропиловом спирте и измельчением в спирте пористого слоя ультразвуком до порошкообразного состояния [10]. Для получения образцов использовались пластины n-типа с ориентацией (100) и удельным сопротивлением 0.3 Ом·см. Состав раствора и режимы электрохимического травления мезо и макропористого кремния подробно описаны в работе [11].

Определение удельной поверхности является одним из самых распространенных методов исследования пористых и порошковых материалов. Со значением удельной поверхности связаны такие характеристики порошков, как каталитическая активность, электростатические свойства, способность к сорбции, способность удерживать влагу и продолжительность хранения. Для оценки величины удельной поверхности использовали

явление физической адсорбции инертного газа на исследуемом образце. Данный способ исследования реализуется в приборах Сорби. Принцип работы приборов основан на сравнении объемов газа-адсорбата, поглощаемого исследуемым образцом, и стандартным образцом материала с известной удельной поверхностью. Для измерения объема адсорбированного газа (в качестве газа-адсорбата используется азот) применяли метод тепловой десорбции. Измерение проводили при четырех различных относительных парциальных давлениях газа-адсорбата. Для расчетов удельной поверхности использована теория Брунауэра, Эммета, Теллера (БЭТ) [12].

С целью изучения процесса сорбции винпоцетина на поверхности пластины пористого кремния погружали в 5% раствор лекарственного вещества. Пластины выдерживали в течение 60 минут. Особенности сорбции исследовали методом ИК-спектроскопии, которую проводили с использованием приставки для измерения поглощения/пропускания тонкопленочных образцов к ИК-фурье спектрометру VERTEX 70 (BRUKER). Спектры поглощения/пропускания регистрировали с разрешением  $0.01 \text{ см}^{-1}$  по волновому числу при времени регистрации фона/спектра 64 с в диапазоне  $400\text{--}4000 \text{ см}^{-1}$  [13].

С целью проверки отсутствия влияния лекарственного вещества на поверхность пористого кремния для образцов были проведены исследования фотолуминесценции кремния и кремния с осажденным винпоцетином. Измерения спектров люминесценции проводили на автоматическом спектрально-люминесцентном комплексе с монохроматором МДР-4. Для возбуждения был использован лазер с длиной волны излучения 437 нм.

Высвобождение лекарственного вещества из наночастиц изучали методом диализа через полупроницаемую целлофановую мембрану (толщина 0,25 мм, размер пор 50 мкм) при температуре  $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ . В качестве сред высвобождения были выбраны: очищенная вода, 0.01 М раствор хлористоводородной кислоты и буферный раствор (рН=6,84). Объем среды растворения 100 мл. Пробы диализата (5 мл) отбирали через каждый час. Объем среды восполняли тем же растворителем. Для определения содержания винпоцетина использовали спектрофотометрический метод в УФ-области ( $314 \pm 2 \text{ нм}$ ). Концентрацию веществ в растворах находили по калибровочному графику.

Расчет количества лекарственного вещества ( $X$ , %), продиализировавшего за определенный промежуток времени с учетом невозвращенного вещества, проводили по формуле:

$$X_i(\tau) = \frac{C_1 + V_1}{V_2} + C_x$$

где  $X_{i(\tau)}$  - количество лекарственного вещества, %;  $C_1$  - содержание лекарственного вещества в пробе (5 мл диализата), %;  $V_1$  - объем диализата, мл (100 мл);  $V_2$  - объем диализата, отобранного для анализа, мл (5 мл);  $C_x$  - количество лекарственного вещества, содержащегося в ранее отобранных пробах диализата;  $i$  - номер пробы по порядку ее отбора.

Данные, полученные в ходе исследований, статистически обрабатывали с помощью пакета программ «Microsoft Excel» с использованием  $t$ -критерия Стьюдента при доверительной вероятности 0,95 в соответствии с требованиями ГФ XIII.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 2 представлены РЭМ-изображения сколов полученных образцов мезопористого и макропористого кремния. При приблизительно одинаковой толщине пористого слоя (~ 10-12 мкм), средний диаметр пор в полученном по описанной выше методике электрохимического травления в мезопористом кремнии составляет от 50 до 100 нм, а для макропористого кремния от 100-200 нм.

В процессе получения порошков пористый слой образцов механически удалялся с последующей обработкой ультразвуком. В таблице 1 приведены значения удельной поверхности порошков мезо- и макропористого кремния, рассчитанные по

методу БЭТ, и соответствующие размеры частиц в образце, рассчитанные исходя из приближения, что частицы одинаковы по размеру, сферической формы и не имеют пор.

Таблица 1

Удельная площадь поверхности и средний рассчитанный размер частиц пористого кремния

Показатели	Мезо пор-Si	Макро пор-Si
$S_{уд}$ , м <sup>2</sup> /г (БЭТ)	60 ± 5	36 ± 5
Размер частиц, нм (при $\rho \approx 2.6$ г/см <sup>3</sup> )	30	60

Исследования показали, что образцы мезопористого кремния имеют диаметр пор менее 100 нм, удельную поверхность 60 м<sup>2</sup>/г, макропористого кремния - поры в диапазоне 100–200 нм и удельную поверхность 36 м<sup>2</sup>/г. Таким образом, для дальнейших исследований были выбраны образцы мезопористого кремния, т.к. благодаря большей удельной поверхности может быть обеспечена более высокая адсорбционная способность. Кроме того, мезопористый кремний обладает достаточно высокой степенью пористости, что позволяет адсорбировать сравнительно большее количество лекарственного препарата, не только поверхностью, но и «объемом» частицы.

Сравнительный анализ ИК-спектров образцов исходного пористого кремния и образцов после осаждения винпоцетина (рис. 3) подтвердил присутствие винпоцетина на поверхности пористого кремния, что проявляется в виде появления дополнительных выраженных особенностей спектра в области 1200–1750 см<sup>-1</sup>, в том числе соответствующих винпоцетину пиков поглощения в области при 1720, 1607, 1680 см<sup>-1</sup>.

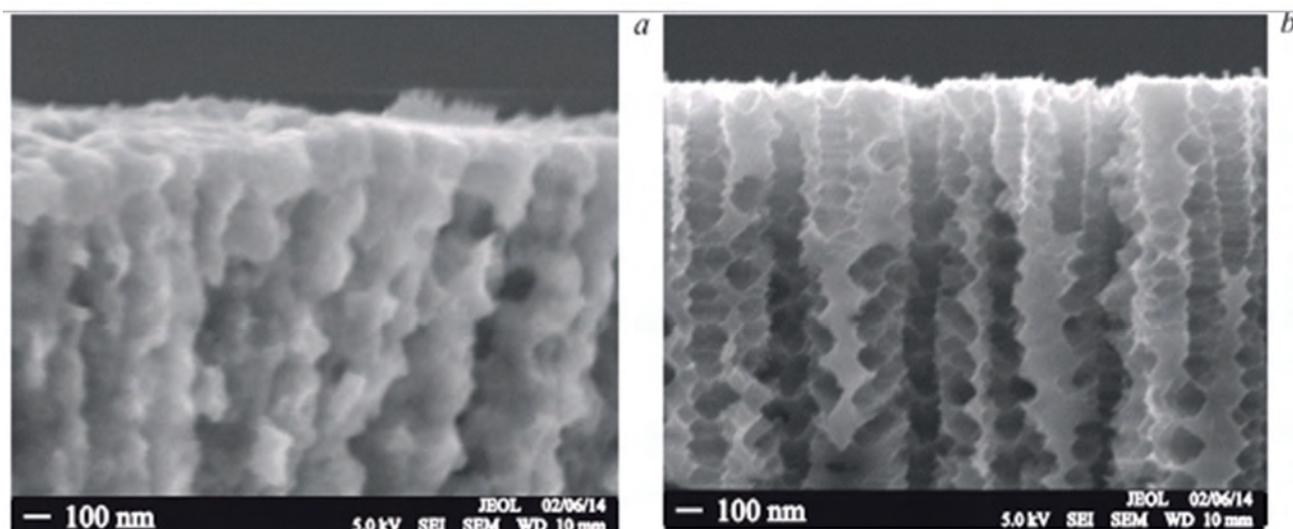


Рис. 2. РЭМ-изображения скола образцов мезо- (а) и макропористого кремния (б).

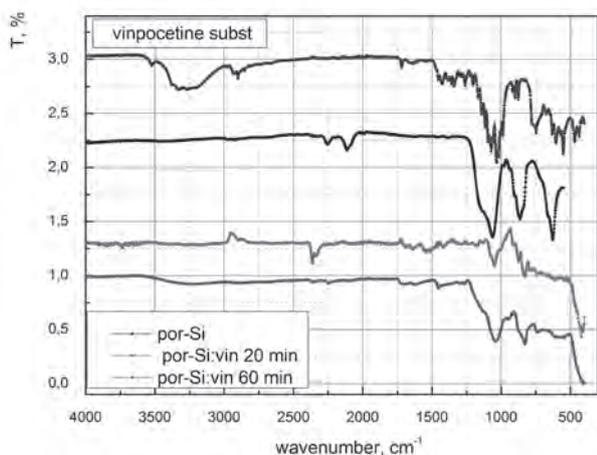


Рис. 3. ИК-спектры пропускания пористого кремния с осажденным винпоцетином в зависимости от времени осаждения

Спектры люминесценции пористого кремния и кремния с осажденным винпоцетином представлены на рисунке 4.

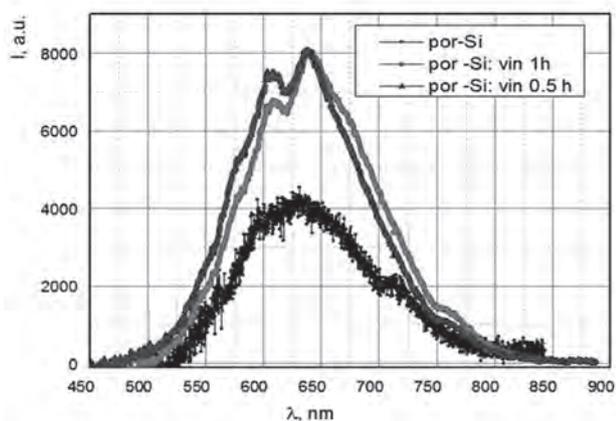


Рис. 4. Спектр люминесценции пористого кремния и пористого кремния с осажденным винпоцетином

Пик полос люминесценции как самого пористого кремния, так и пористого кремния с осажденным винпоцетином находится в одной и той же

области (600-700 нм). Таким образом, выявлено, что осаждение лекарственного вещества не снижает интенсивность и не меняет форму полосы фотолюминесценции пористого кремния, что подтверждает отсутствие значительного химического взаимодействия между лекарственными веществами и пористым кремнием.

Концентрация винпоцетина в диализной среде возрастает постепенно. Отмечено более полное высвобождение в диализную среду, представляющую собой 0.1 М раствор кислоты хлористоводородной (рис. 5). К 6 часам эксперимента концентрация винпоцетина в среду кислоты хлористоводородной составляет 60%. При этом более медленное высвобождение происходит из наночастиц в среду буферного раствора (рН=6,84) и составляет 22.4 % за 6 часов.

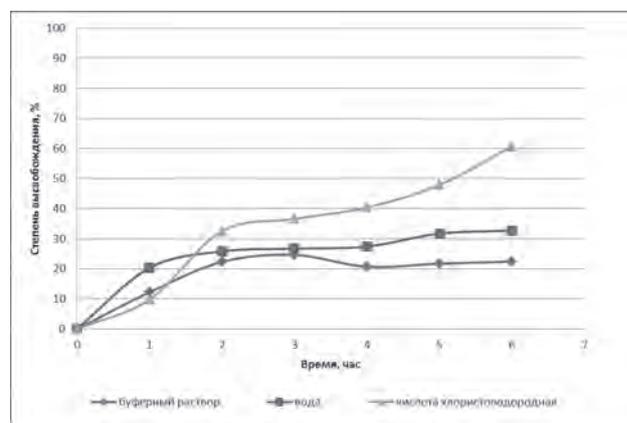


Рис. 5. Динамика высвобождения винпоцетина из наночастиц в различные среды

В таблице 2 представлена сравнительная характеристика степени высвобождения винпоцетина из наночастиц и микрокапсул, полученных ранее методом диспергирования в системе жидкость-жидкость с оболочками различной природы [14, 15].

Представленные в таблице данные подтверждают пролонгированное высвобождение винпоцетина из систем доставки: наночастиц и микрокапсул.

Таблица 2.

Сравнительная характеристика степени высвобождения винпоцетина из различных систем доставки

Форма	Высвобождение	Время
Микрокапсулы (оболочка этилцеллюлоза)	32% и 70%	1 час в среде HCl и 6 часов соотв.
Микрокапсулы (оболочка желатин)	60% и 94%	1 и 6 часов соотв. в среде HCl
Микрокапсулы (оболочка альгинат натрия)	90%	2 часа в среде HCl
Наночастицы пористого кремния	9.8% и 60.7%	1 и 6 часов соотв. в среде HCl

## ВЫВОДЫ

Проведенные исследования показали возможность сорбции на мезопористый кремний винпоцетина с использованием простых и недорогих технологических подходов. Установлено, что механизм сорбции данного лекарственного вещества на поверхность пористого кремния имеет преимущественно физический характер. Полученные системы доставки обладают *in vitro* пролонгированным действием, сравнимым со степенью высвобождения винпоцетина из микрокапсулированных форм. Таким образом, показана возможность использования наночастиц пористого кремния в качестве средства пролонгированной доставки винпоцетина и перспективность дальнейших фармакологических исследований.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки России в рамках государственного задания вузам в сфере научной деятельности на 2014–2016 гг. (проект № 740) и грантов президента РФ МК-3317.2015.7, МК-4865.2016.2.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чехонин В.П. Медицинские наночастицы и наноконтейнеры в диагностике и векторной терапии заболеваний ЦНС / В.П. Чехонин, В.П. Баклашев, Д.А. Кузнецов // Вестник РГМУ. — 2010. — № 4. — С. 10–15.
2. Бирам Д.А. Фармацевтическая нанотехнология как ключевой фактор экономического развития / Д.А. Бирам, Д.К. Смагулова, Б. Кенич // Разработка и регистрация лекарственных средств. — 2015. — № 3(12). — С. 98–101.
3. Нанотехнологии в медицине и фармацевтике / А.И. Марахова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. — 2015. — № 1 (10). — С. 72–78.
4. Duncan R. Polymer-drug conjugates: towards a novel approach for the treatment of endocrine-related cancer / R. Duncan // Nat. Rev. Cancer. — 2006. — Vol. 6. — P.688–701.
5. Diffusion and Molecular Exchange in Hollow Core–Shell Silica Nanoparticles / A. Pochert [et al.] // Langmuir. — 2015. — Vol. 31. — P.10285–10295.
6. Kumar D. Sathis. Porous silicon - a novel biomaterial for drug delivery / Kumar D. Sathis, Banji David, Madhavi Bindu // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. — 2009. — Vol. 1. — P. 8–16.
7. Пористый кремний и его применение в биологии и медицине / Ксенофонтва О.И.[и др.] // Журнал технической физики. — 2014. — Т. 84, вып. 1. — С. 67–78.
8. Canham L. Handbook of Porous Silicon. Springer. — 2014. — 1017 p.
9. Современные подходы к диагностике, профилактике и терапии когнитивных нарушений при дисциркуляторной энцефалопатии / В.Ю. Лобзин [и др.] // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. — 2014. — № 2. — С. 51–56.
10. Состав и реакционная способность нанопорошков пористого кремния / А.С. Леньшин [и др.] // Неорганические материалы. — 2012. — Т. 48, № 10. — С. 1091–1096.
11. Preparation and degradation of the optical properties of nano-, meso-, and macroporous silicon / A.S. Lenshin [et al.] // Materials Science in Semiconductor Processing, February 2015, Vol. 30. — P. 25–30.
12. Леньшин А.С. Исследование удельной поверхности перспективных пористых материалов и наноструктур методом тепловой десорбции / А.С. Леньшин, Е.В. Мараева // Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ». — 2011. — № 6. — С. 9–16.
13. Полковникова Ю.А. Изучение процесса осаждения винпоцетина на поверхность пористого кремния с целью создания систем точечной доставки / Ю.А. Полковникова, А.С. Леньшин, П.В. Середин // 18-я молодежная научная школа по твердотельной электронике «Микро- и нанотехника нового поколения» Сборник трудов СПбГЭТУ «ЛЭТИ», Санкт-Петербург. 2015. — С. 56–57.
14. Полковникова Ю.А. Исследования по разработке капсулированной лекарственной формы винпоцетина / Ю.А. Полковникова // Биофармацевтический журнал. — 2015. — Т. 7, № 4. — С. 31–36.
15. Полковникова Ю.А. Разработка пролонгированной пероральной лекарственной формы для композиции винпоцетина с ретинола ацетатом / Ю.А. Полковникова, К.О. Ганзюк // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Поиск новых физиологически активных веществ. Материалы 4-й Всероссийской с международным участием научно-методической конференции "Фармобразование-2010". — 2010. — С. 303–305.

*Воронежский государственный университет  
Полковникова Ю. А., к. фармацевт. н., ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии*

*Тел.: 8-908-139-75-82*

*E-mail: juli-polk@mail.ru*

*Voronezh State University  
Polkovnikova Y. A., PhD. (Pharmacy), Assistant Professor, dept. of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology*

*Ph.: 8-908-139-75-82*

*E-mail: juli-polk@mail.ru*

*Леньшин А. С., к. ф.-м. н., старший научный сотрудник кафедры физики твердого тела и наноструктур*

*Тел.: 8 (4732)208-363*

*E-mail: lenshinas@phys.vsu.ru*

*Lenshin A. S., Ph.D. (physics and mathematics), Chief Researcher, dept. of Solid State Physics and Nanostructures*

*Ph.: 8 (4732)208-363*

*E-mail: lenshinas@phys.vsu.ru*

*Середин П. В. д. ф.-м.н., доцент кафедры физики твердого тела и наноструктур*

*Тел. 8(473)2208363*

*E-mail: paul@phys.vsu.ru*

*Seredin P. V., Ph.D. (physics and mathematics), D.Sci., Associate Professor, dept. of Solid State Physics and Nanostructures*

*Ph.: 8(473)2208363*

*E-mail: paul@phys.vsu.ru*

*Военный учебно-научный центр военно-воздушных сил «военно-воздушная академия имени профессора Н. Е. Жуковского и Ю. А. Гагарина»*

*Минаков Д. А., к. ф.-м. н., Доцент кафедры физики и химии*

*Тел. 8(473)2208363*

*E-mail: minakovda@mail.ru*

*Military Training and Research Center of the Air Force "N. Zhukovsky and Y. Gagarin Air Force Academy"*

*Minakov D. A., Ph.D. (physics and mathematics), Associate Professor, dept. of Physics and Chemistry*

*Ph.: 8 (473)2208-363*

*E-mail: minakovda@mail.ru*

*Медицинский институт Российского университета дружбы народов*

*Третьякова Е. В., к. фармацевт. н., доцент кафедры Эстетической медицины Факультета повышения квалификации медицинских работников*

*Ph. +7-926-391-48-19*

*E-mail: tretiackowa.yekaterina@yandex.ru*

*Medical School of the Russian Peoples' Friendship University*

*Tretyakova E. V., PhD. (Pharmacy), Associate Professor, dept. of Aesthetic medicine, faculty of advanced training of medical workers*

*Ph. +7-926-391-48-19*

*E-mail: tretiackowa.yekaterina@yandex.ru*