

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТІВ ПІДВИЩЕННЯ РОЗЧИННОСТІ ГЕСПЕРИДИНУ

**Бессарабов В.І., Кузьміна Г.І., Харитоненко Г.І., Шевчук А.І., Ященко К.С.,
Данченко О.В., Лісовий В.М., Ладан О.С.**

Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, м Київ, Україна, e-mail: artemshevchuk@ukr.net

У статті розглядаються особливості фармацевтичного аналізу новостворюваних геріатричних лікарських засобів. Було проведено дослідження фазової розчинності за методом Хігуччі та Коннора. Проведено експеримент з різними хімічними субстанціями (манітол, полівініловий спирт, поліетиленгліколь 400, пропіленгліколь, сечовина, Твін-80) які, можуть підвищувати розчинність гесперидину. Створена тверда дисперсна система із сечовиною показала найкращий результат в проведеному дослідженні. Стаття базується на експериментальних даних, які показують позитивний вплив створеної твердої дисперсної системи на підвищення біодоступності гесперидину. В результаті проведених експериментів було встановлено максимальне значення підвищення розчинності в системі з сечовиною та Твіном-80 – у 27 разів, та доведено, що після додавання одразу декількох високо молекулярних сполук є значно ефективнішим, ніж при додаванні однієї сполуки.

Ключові слова: гесперидин, тверда дисперсна система, біофлавоноїд, геріатрія.

RESULTS OF THE EXPERIMENTS OF INCREASING THE SOLUBILITY OF HESPERIDINE

**Bessarabov V.I., Kuzmina G.I., Kharitonenko H.I., Shevchuk A.I.,
Yashchenko K.S., Danchenko O.V., Lisovyi V.M., Ladan O.S.**

Kyiv National University of Technologies and Design, Department of Industrial Pharmacy, Kyiv, Ukraine, e-mail: artemshevchuk@ukr.net

The article deals with the peculiarities of pharmaceutical analysis of newly developed geriatric medicines. Experiment with various chemical substances (mannitol, polyvinyl alcohol, polyethylene glycol 400, propylene glycol, urea, tween-80) which can increase the solubility of hesperidin was conducted. The created solid dispersion system with urea showed the best result in the conducted research. The article is based on experimental data, which show the positive effect of the created solid dispersion system on increasing the bioavailability of hesperidin. As a result of the experiments, the maximum value of solubility increase in the system with urea

and tween-80 was found to be 27 times. But it has been proven that after the addition of several high molecular weight compounds it is much more effective than the addition of one compound.

Keywords: hesperidin, solid dispersion system, bioflavonoid, geriatrics.

Одним із методів профілактики захворювань є застосування біологічно активних речовин рослинного походження, які можуть позитивно впливати на фізіологічні процеси людського організму, підвищуючи його резистентність та бути менш токсичними.

Одним із представників біологічно активних речовин флавоноїдної природи є гесперидин, який належить до підгрупи флавононів. Проблемою його застосування в складі лікарських засобів є його низька розчинність, що значно впливає на показник біодоступності.

Тому було вирішено провести ряд досліджень які будуть направленні на підвищення його біодоступності.

Мета дослідження: пошук методу для підвищення розчинності гесперидину – активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ) рослинного походження.

Матеріали і методи дослідження.

Для підвищення біодоступності малорозчинних у воді лікарських речовин було запропоновано метод введення ЛР, а саме тверді дисперсні системи. Це було запропоновано японськими фармацевтами Sekiguchi (Секігучі) та Obi (Обі) [1, 2].

Для отримання спектрів поглинання – однопроменеий скануючий спектрофотометр Optizen POP (Південна Корея); перемішування отриманих розчинів гесперидину з полімером на приладі Flaskshaker SF1 (Stuart Scientific, GB), центрифугування розчину з використанням центрифуги лабораторної CM-8 (MICRO med, КНР); прилад для нагрівання Vankel VK 750D (Varian, USA).

Тверді дисперсні системи – це багатокомпонентні системи, що містять

ліпофільні ЛР та водорозчинні носії, де ЛР знаходиться у вигляді високодиспергованої твердої фази а саме в матриці носія з утворенням міжмолекулярних комплексів перемінного складу з матеріалом носія. Створення ТДС дає можливість збільшити швидкість розчинення флавоноїдів і забезпечувати рівномірне вивільнення з системи діючої речовини [3].

Гесперидин масою 0,0005 г було поміщено у мікропробірки типу Eppendorf об'ємом 2 мл. Після чого було пронумеровано кожен з пробірок: А1, В1, С1; А2, В2, С2; А3, В3, С3; А4, В4, С4; А5, В5, С5. До АФІ додавали різну вагу допоміжних речовин (манітол, полівініловий спирт, поліетиленгліколь 400, пропіленгліколь, сечовина, Твін-80) які покращували його розчинність та воду 3 класу. Приклади складу композицій представлені у таблиці 1.

Таблиця 1. Склад №1.

	A1, B1, C1	A2, B2, C2	A3, B3, C3	A4, B4, C4	A5, B5, C5
Полімер	0,1	0,17	0,27	0,44	0,71
Вода 3 класу чистоти, мл	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Hes, г	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005

З отриманих результатів(Рисунок 1), було вирішено що використовувати ПАР ми будемо в композиції з сечовиною, оскільки з нею були найкращі результати.

Кількість ПАР, яку необхідно внести в пронумеровані пробірки типу Eppendorf об'ємом 2 мл, розраховували за рівнянням 1:

$$m = \frac{m(\text{Сечовини}) + m(\text{HES}) + V(\text{H}_2\text{O})}{100\%} \times 0,5\% \quad (1)$$

Отриману суміш перемішували протягом 30 хвилин при температурі

37±0,5°C за допомогою термошейкера. Після перемішування пробірки центрифугували протягом 15 хвилин зі швидкістю 8000 об/хв на центрифугі CM-8 (MICRO med, КНР). Визначали кількість розчиненого Нес в над осадовій рідині на УФ-спектрофотометрі за довжини хвилі $\lambda=284$ нм, використовуючи попередньо побудований калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації Нес в розчині. У якості розчину для порівняння було використано воду 3 класу чистоти.

Результати дослідження.

На першому етапі дослідження було отримано спектри поглинання Нес та фармацевтично прийнятних допоміжних речовин. Максимум поглинання АФІ спостерігали при $\lambda=284$ нм, полімеру(сечовини) – 197 нм, ПАР – 192 нм (рис.1).

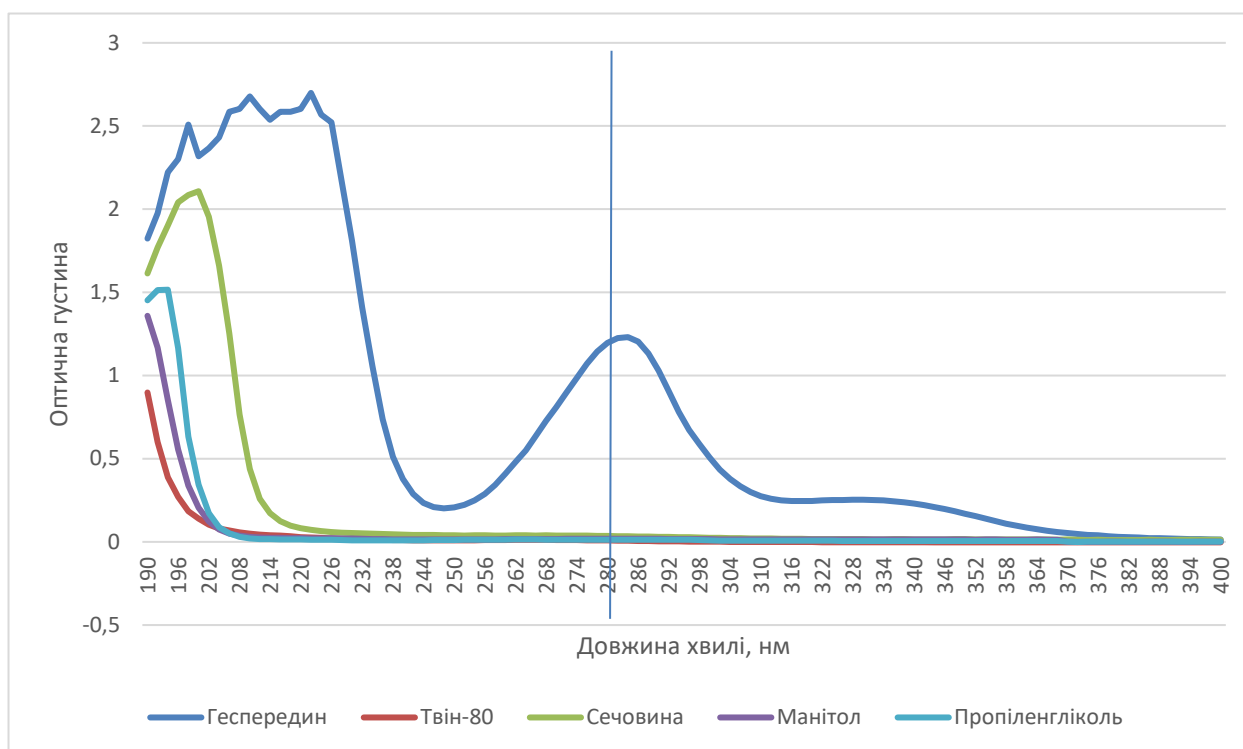


Рисунок 1. Спектри поглинання гесперидину.

З отриманих даних можна зробити висновки, що спектри поглинання допоміжних речовин не перекривають спектр поглинання Нес та не заважають

його спектрофотометричному виявленню в розчині, що дозволяє проводити подальші дослідження.

Наступним кроком було дослідження фазової розчинності, після чого ми отримали дані щодо підвищення розчинності Нес залежно від його складу композиції.

Після чого потрібно було порівняти стандартні криві з отриманими профілями фазової розчинності (рис. 2).

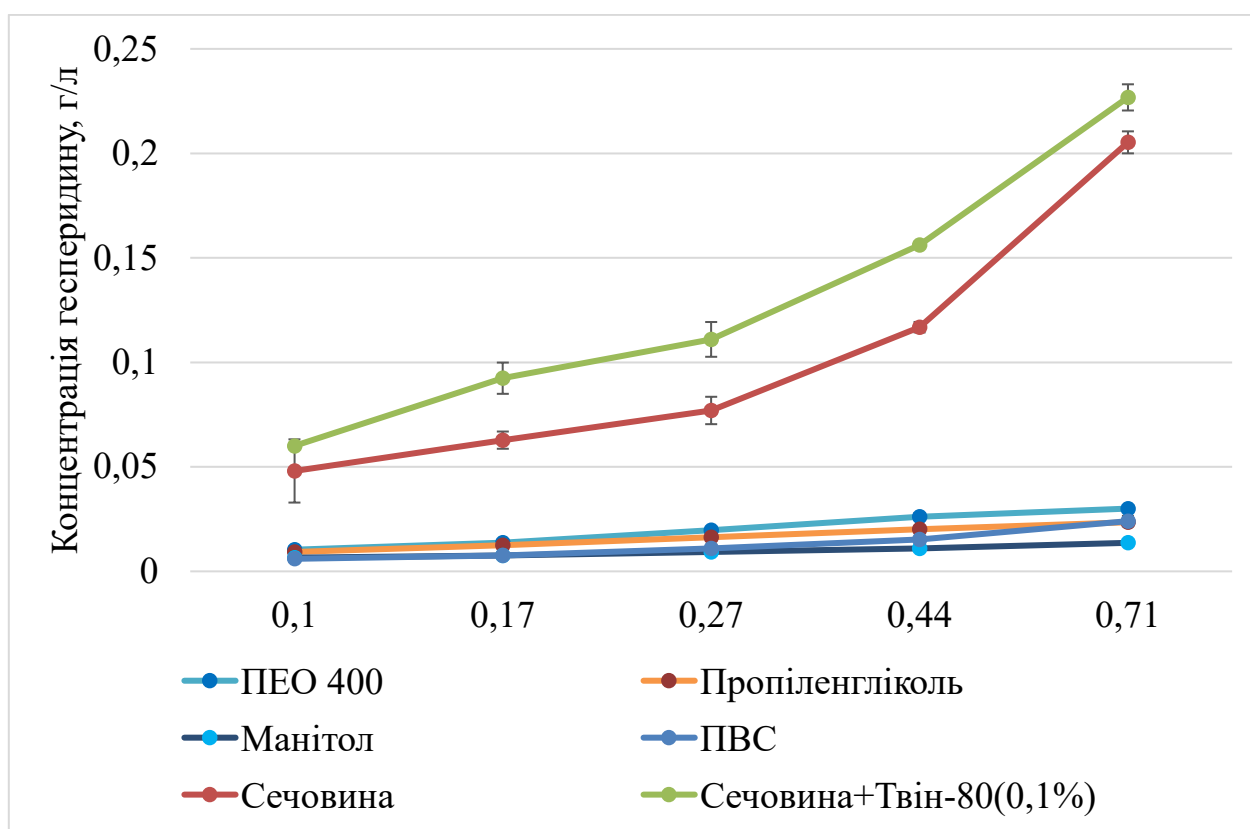


Рисунок 2. Залежність фазової розчинності Нес від складу системи.

Як видно з рисунку 3, існує декілька типів профілів фазової розчинності:

AP: комплекс з різною стехіометрією (спочатку 1:1, потім 1:2 або інший тип взаємодії);

AL: комплекс 1:1, розчинність підвищується в лінійній залежності;

AN: важко описаний (інтерпретований) профіль;

B: утворення комплексу з обмеженою розчинністю у водному середовищі [4].

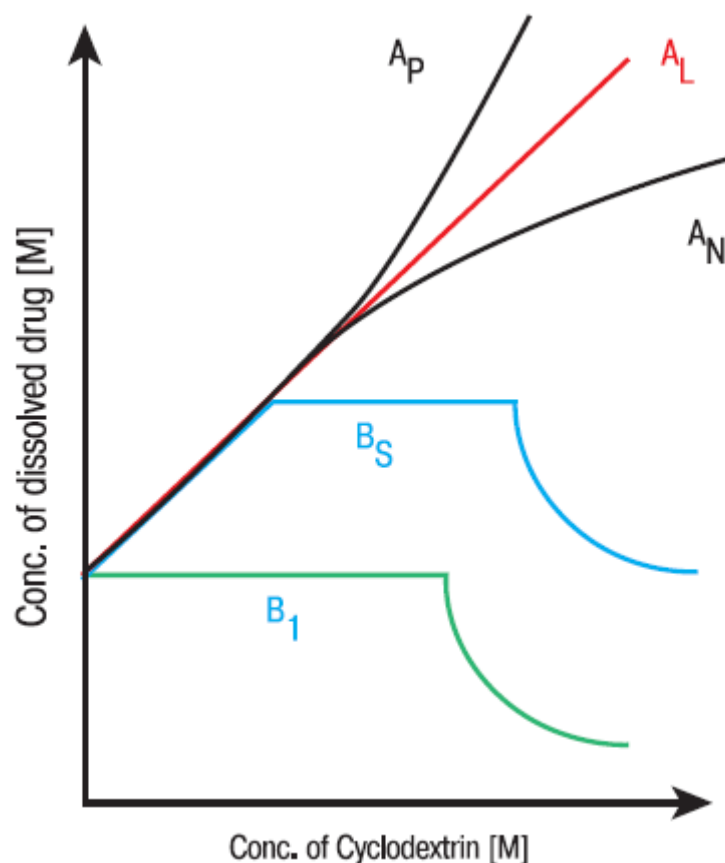


Рисунок 3 – Приклади кривих підвищення розчинності [5].

З виконаного порівняння, можна зробити висновки, що до типу AL відносяться пропіленгліколь та поліетиленоксид 400. До типу AP відносяться манітол, полівініловий спирт, сечовина та сечовина+Твін-80.

Наступний етап був розрахунок констант стійкості між молекулярних комплексів для різних складів при температурі $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Константи стійкості розраховували за рівнянням 2:

$$K_S = \frac{\text{slope}}{S(1 - \text{slope})} \quad (2)$$

де *slope* – кутовий коефіцієнт нахилу, який чисельно дорівнює тангенсу кута між додатнім напрямом осі абсцис та лінією тренду;

S – концентрація Hes при максимальній концентрації полімеру, M.

Константа дисоціації ϵ обернено пропорційна константі утворення комплексу, розрахована за рівнянням 3:

$$K_D = \frac{1}{K_S} \quad (3)$$

Отримані дані констант утворення комплексу, констант дисоціації тангенсу кута між додатнім напрямом осі абсцис та лінією тренду, які представлені у вигляді таблиці 2.

Таблиця 2. Константи утворення комплексу, константи стійкості та дисоціації комплексів Hes з фармацевтично прийнятними допоміжними речовинами у воді при температурі проведення досліду $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

	Slope	K_S, M^{-1}	K_D, M
Манітол (Склад №1)	0,0017	$125,2 \pm 8,3$	$0,0080 \pm 0,0006$
Пропіленгліколь (Склад №2)	0,0036	$154,1 \pm 6,1$	$0,0065 \pm 0,0003$
Полівініловий спирт (Склад №3)	0,0044	$185,4 \pm 20,0$	$0,0054 \pm 0,0006$
Поліетиленоксид 400 (Склад №4)	0,0052	$174,2 \pm 5,4$	$0,0057 \pm 0,0002$
Сечовина (Склад №5)	0,0369	$186,7 \pm 4,7$	$0,0054 \pm 0,0003$
Сечовина+Твін-80 (Склад №6)	0,0397	$182,4 \pm 5,0$	$0,0055 \pm 0,0002$

Графічні дані свідчать про підвищення розчинності Hes із збільшенням кількості високо молекулярних сполук з різною молекулярною масою та ПАР (рис. 4). Підвищення розчинності залежить від складу композиції. При додаванні

одразу декількох ВМР або комбінації ВМР з ПАР розчинність зростає значно більше, ніж при додаванні однієї сполуки. Максимальне значення підвищення розчинності спостерігається в системі Сечовина+Твін-80 – у $26,2 \pm 0,8$ рази.

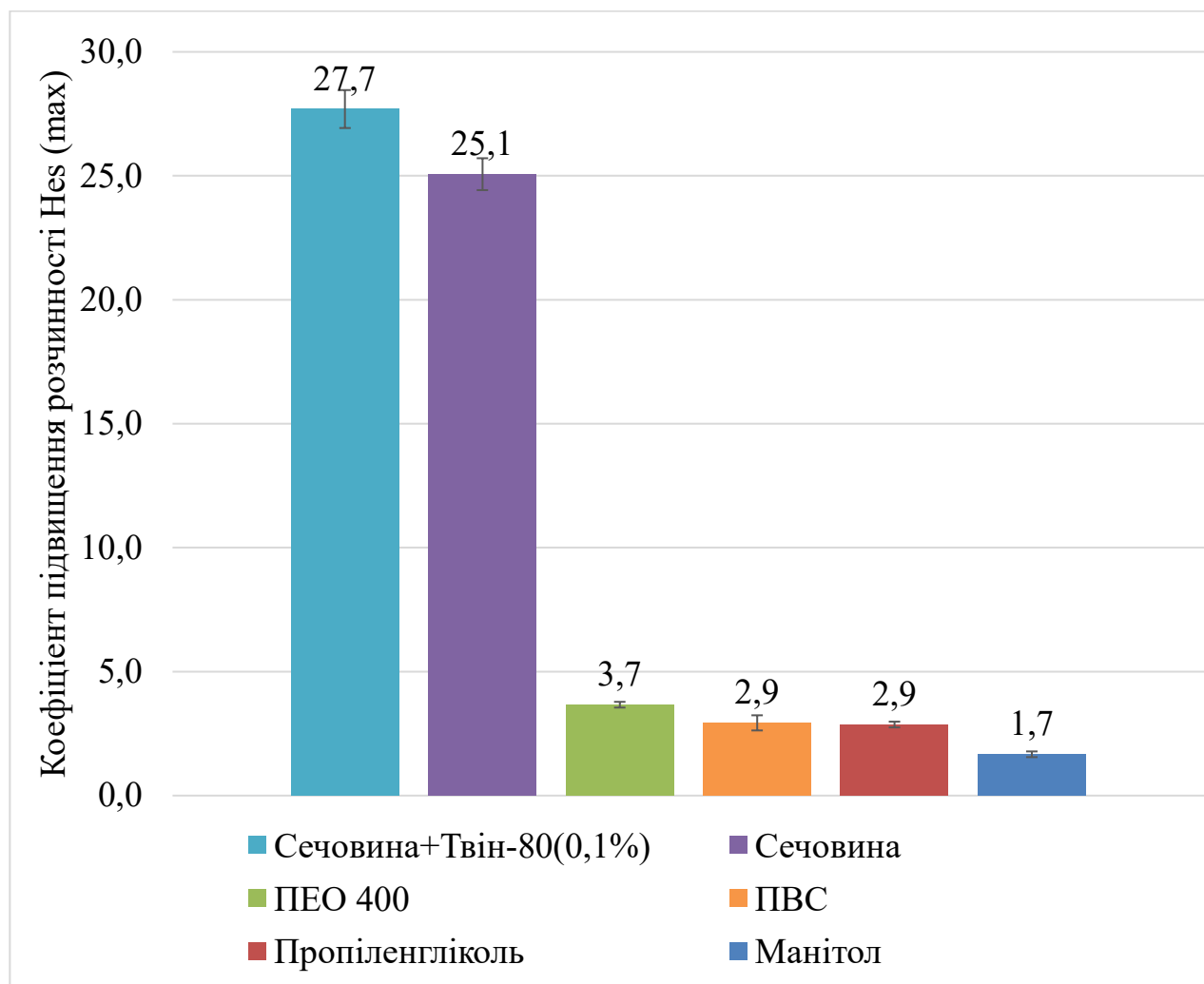


Рисунок 4. Залежність підвищення розчинності Нес від складу системи.

Висновки.

1. З отриманих даних виявлено, що підвищення розчинності Нес залежить від складу композиції. Максимальне значення підвищення розчинності спостерігається в системі Сечовина+Твін-80 – у 26,2 раз.

2. Отримані профілі фазової розчинності Нес відносяться до типу Ар.

Утворюються комплекси, що характеризуються різною стехіометрією (спочатку 1:1, потім 1:2 або інший тип взаємодії).

3. Отримані константи стійкості знаходяться в межах від 154,1 до 182,4 М⁻¹, що свідчить про сприятливі умови утворення комплексів.

Список літератури.

1. Higuchi T. Phase-solubility techniques / T. Higuchi, K. Connors. // Adv. Anal. Chem. Instrum.. – 1965. – №4. – p. 117–122.
2. Connors K. Thermodynamics of Pharmaceutical Systems: An Introduction for Students of Pharmacy / K.A Connors. – Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2002. – 360 p.
3. Landete J.M. Updated knowledge about polyphenols: Functions, bioavailability, metabolism, and health. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2012;52:936–948
4. Schramm DD, Wang JF, Holt RR, et al. Chocolate procyanidins decrease the leukotriene-prostacyclin ratio in humans and human aortic endothelial cells. Am J Clin Nutr 2001; 73:36– 40.
5. Whitney N. Understanding Nutrition / N. Whitney, S. Rolfes. – Boston: Cengage Learning, 2012. – 720 p. – (13th).