

Фармацевтические и фармакологические аспекты исследования новой мягкой лекарственной формы «лидодиклозол»

Илиев Константин Иванов, аспирант;

Кобелева Татьяна Алексеевна, доктор фармацевтических наук, профессор;

Сичко Алик Иванович, доктор фармацевтических наук, профессор

Тюменский государственный медицинский университет

Ларионов Леонид Петрович, доктор медицинских наук, профессор

Уральский государственный медицинский университет (г. Екатеринбург)

Предложена новая лекарственная форма, содержащая лидокаина гидрохлорид, натрия диклофенак и гель «Тизоль». Цель работы - разработка способов анализа ингредиентов мази «лидодиклозол» с применением спектрофотометрии и проведение доклинических исследований фармакологических свойств лекарственной формы.

Ключевые слова: лидокаина гидрохлорид, натрия диклофенак, тизоль, мазь «лидодиклозол», спектрофотометрический анализ, фармакологические исследования.

В настоящее время актуальной проблемой в области здравоохранения является разработка и поиск новых фармакологических веществ с определенной направленностью действия. На протяжении многих веков люди пытаются лечить больных самыми различными способами с применением новых более эффективных препаратов. Однако особенно при воспалительных процессах необходимо постоянно обновлять химиотерапевтические средства, так как происходит привыкание макроорганизма и микроорганизмов к применяемым фармакологическим средствам. Кроме того, при их использовании для местного и наружного применения в мягкой лекарственной форме важным фактором в активности препарата является основа. В связи с этим, нами разработана новая фармацевтическая композиция с противовоспалительным действием для местного и наружного применения, содержащая 1,0% лидокаина гидрохлорида и 0,5% натрия диклофенака в геле «Тизоль». Предлагаемая лекарственная форма достаточно востребована в экстремальной рецептуре аптек городов Тюмени и Екатеринбурга. Поэтому необходимо разрабатывать способы фармацевтического анализа и проводить доклинические исследования мази. Это позволит разработать проект фармакопейной статьи на препарат «Лидодиклозол» и рекомендации по применению новой лекарственной формы в медицинской практике.

Для проведения фармацевтических исследований использовали современный фармакопейный оптический метод анализа – спектрофотометрию. Натрия диклофенак и лидокаина гидрохлорид идентифицировали по спектрам поглощения в УФ области. Характер спектров поглощения зависит от pH среды растворов. Особое влияние оказывает

pH среды на $\pi \rightarrow \pi^*$ электронные переходы, так как происходит протонизация группировок, поэтому изучали спектры поглощения ионизируемой (pH = 1) и молекулярной форм (pH = 13) препаратов, а так же их этанольных растворов. Спектр поглощения натрия диклофенака в 0,1 моль/л растворе хлороводородной кислоты (катионная форма лекарственного препарата) имеет один максимум поглощения при длине волны 270 нм и минимум - в области 250 нм. УФ-спектр поглощения препарата в 0,1 моль/л растворе щелочи имеет один максимум светопоглощения при длине волны 275 нм и минимум – в области 248 нм. Полоса светопоглощения молекулярной формы лекарственного препарата смещена bathochromно на 5 нм по сравнению с максимумом светопоглощения катионной формы и наблюдается гипсохромный эффект. Спектр поглощения натрия диклофенака в этаноле имеет одну высокоинтенсивную полосу с максимумом при $\lambda = 283$ нм ($\epsilon = 14500$) и минимумом поглощения при 251 нм ($\epsilon = 2750$).

Спектр поглощения катионной формы лидокаина гидрохлорида имеет одну высокоинтенсивную полосу с максимумом при длине волны 201 нм и минимум при $\lambda = 260$ нм. Лекарственный препарат при pH = 13 максимально поглощает свет в области 216 нм и минимально - при длине волны 260 нм. Полоса светопоглощения молекулярной формы лидокаина гидрохлорида смещена bathochromно на 15 нм по сравнению с максимумом светопоглощения катионной формы, при этом наблюдается гипсохромный эффект. Спектр поглощения этанольного раствора лекарственного препарата имеет одну полосу с максимумом при длине волны 203 нм ($\epsilon = 25250$).

Таблица 1. Оптические характеристики катионной и молекулярной форм натрия диклофенака

0,1 моль/л раствор HCl		0,1 моль/л раствор NaOH	
Константы	Цифровые значения	Константы	Цифровые значения
$\epsilon_{\text{max}(270)}$	7750	$\epsilon_{\text{max}(275)}$	11250
$\epsilon_{\text{min}(250)}$	5250	$\epsilon_{\text{min}(248)}$	5875
$\epsilon_{\text{max}(270)}/\epsilon_{\text{min}(250)}$	1,48	$\epsilon_{\text{max}(275)}/\epsilon_{\text{min}(248)}$	1,91
$\lg \epsilon_{\text{max}(270)}$	3,89	$\lg \epsilon_{\text{max}(275)}$	4,05
$\lg \epsilon_{\text{min}(250)}$	3,72	$\lg \epsilon_{\text{min}(248)}$	3,77
$E_{1\%}^{1\text{cm}(270)}$	243,60	$E_{1\%}^{1\text{cm}(275)}$	353,62
$E_{1\%}^{1\text{cm}(250)}$	165,02	$E_{1\%}^{1\text{cm}(248)}$	184,67
$E_{1\%}^{1\text{cm}(270)}/E_{1\%}^{1\text{cm}(250)}$	1,48	$E_{1\%}^{1\text{cm}(275)}/E_{1\%}^{1\text{cm}(248)}$	1,91

Таблица 2. Оптические характеристики катионной и молекулярной формы лидокаина гидрохлорида

0,1 моль/л раствор HCl		0,1 моль/л раствор NaOH	
Константы	Цифровые значения	Константы	Цифровые значения
$\epsilon_{\max(20)}$	27750,00	$\epsilon_{\max(26)}$	11750,00
$\epsilon_{\min(23)}$	500,00	$\epsilon_{\min(23)}$	500,00
$\epsilon_{\max(20)}/\epsilon_{\min(23)}$	55,50	$\epsilon_{\max(26)}/\epsilon_{\min(23)}$	23,50
$\lg\epsilon_{\max(20)}$	4,44	$\lg\epsilon_{\max(26)}$	4,07
$\lg\epsilon_{\min(23)}$	2,70	$\lg\epsilon_{\min(23)}$	2,70
$\lg\epsilon_{\max(20)}/\lg\epsilon_{\min(23)}$	1,64	$\lg\epsilon_{\max(26)}/\lg\epsilon_{\min(23)}$	1,51
$E_{\text{cm}(20)}^{1\%}$	960,81	$E_{\text{cm}(26)}^{1\%}$	406,83
$E_{\text{cm}(23)}^{1\%}$	17,31	$E_{\text{cm}(23)}^{1\%}$	17,31

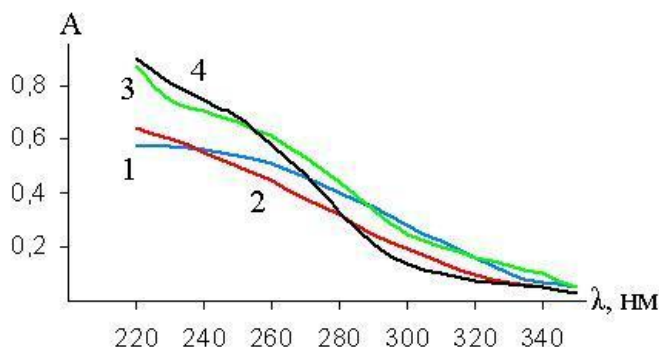


Рис 1. Спектры поглощения геля «Тизоль»

1 – pH = 2, C = 0,05 %; 2 – pH = 4, C = 0,05 %; 3 – pH = 10, C = 0,025 %; 4 – pH = 13, C = 0,025 %

По изученным спектрам поглощения катионной и молекулярной форм анализируемых соединений рассчитаны оптические характеристики: молярные и удельные коэффициенты светопоглощения в максимальных и минимальных точках и их отношения, логарифмы молярных коэффициентов светопоглощения, отношения оптических плотностей при экстремумах и минимумах (табл. 1, 2). Приведенные показатели заметно отличаются друг от друга, что позволяет использовать их для идентификации лекарственных препаратов в субстанции и мази «Лидодиклозоль».

Гель «Тизоль» легко растворим в растворах оснований, растворим в кислотах и частично в этаноле. Поэтому нами изучены УФ-спектры поглощения кислого, щелочного раствора его и спиртовой вытяжки (рис. 1). Оптическая плотность растворов уменьшается в области от 220 нм до 340 нм. Исходя из этого, при разработке способов количественного анализа лекарственных препаратов в мази спектрофотометрическим методом их необходимо отделять от основы или растворять мазь в подходящем растворителе, а плотность спиртовых растворов следует измерять по отношению к этанольной вытяжке геля «Тизоль».

Спектральные характеристики использовали для разработки способа количественного определения ингредиентов в «Лидодиклозоле». Ввиду того, что спектры поглощения лекарственных препаратов перекрываются, поэтому каждый из них в смеси анализировать, применяя основной закон светопоглощения, невозможно. Для аналитических целей нами использован метод К. Фирордта, согласно которому производили расчеты по значениям молярных коэффициентов светопоглощения изучаемых веществ в максимумах поглощения и устанавливали аналитические длины волн. Для разработки методики количественного анализа лидокаина гидрохлорида и натрия диклофенака в

мягкой лекарственной форме готовили искусственную смесь с точной концентрацией ингредиентов согласно прописи, заменяя основу тизоль на 95% этиловый спирт. Анализ проводили по следующей методике: в мерную колбу вместимостью 100 мл вносят 1 мл этанольного раствора и 0,1 моль/л раствором гидроксида натрия (калия) доводят объем жидкости в колбе до метки. К 4 мл полученного раствора добавляют 6 мл 0,1 моль/л гидроксида натрия (калия) и измеряют оптическую плотность смеси при аналитических длинах волн с помощью спектрофотометра в кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм. Измерения производят по отношению к раствору сравнения, полученному аналогичным способом без добавления лекарственных препаратов (0,1 моль/л раствор щелочи). По полученным значениям рассчитывают молярную концентрацию лидокаина гидрохлорида и натрия диклофенака и определяют их граммовое содержание. Установлено, что относительная ошибка анализа лекарственных препаратов в искусственной смеси находится в пределах $\pm 0,9 - 1,3\%$, поэтому предложенную методику можно использовать при исследовании ингредиентов в изучаемой прописи. Методика: навеску лекарственной формы около 1,0 г (точная масса) переносят в стеклянный химический стаканчик, добавляют 25 мл 95% раствора этанола и смесь перемешивают до получения дисперсной системы. Полученную смесь фильтруют через бумажный фильтр с помощью водоструйного (или вакуумного) насоса. Далее, к 1 мл фильтрата прибавляют 0,1 моль/л раствор гидроксида натрия до получения общего объема 10 мл и измеряют оптическую плотность полученного раствора при аналитических длинах волн относительно раствора сравнения. Для его получения, около 1,0 г (точная навеска) тизоля переносят в стеклянный химический стаканчик, добавляют 25 мл 95% этанола и полученный дисперсный раствор фильтруют через бу-

мажный складчатый фильтр, аналогично методике анализа лекарственных препаратов. К 1 мл полученного фильтрата добавляют 9 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида и после перемешивания смеси помещают её в кювету спектрофотометра. По полученным данным оптических плотностей и рассчитанным молярным коэффициентам светопоглощения находят молярные концентрации лекарственных препаратов по формулам К. Фирордта. Результаты исследования показали, что содержание их в прописи находится в пределах допустимых норм в граммах и отклонений.

Как показали экспериментальные данные, лидокаина гидрохлорид не поглощает свет при длине волны 280 нм в концентрациях $1 \cdot 10^4$ моль/л и меньших в 0,1 моль/л растворах гидроксида натрия (калия) и хлороводородной кислоты. Это дает основание количественно определять натрия диклофенак в данных условиях в присутствии лидокаина гидрохлорида. В виду того, что растворы натрия диклофенака подчиняются основному закону светопоглощения, готовили 100 мл исходного спиртового раствора лекарственного препарата с концентрацией $1 \cdot 10^3$ моль/л. Для исследования готовили $1 \cdot 10^4$ - $7 \cdot 10^5$ моль/л и $4,5 \cdot 10^5$, $5 \cdot 10^5$ моль/л растворы, разбавляя исходный раствор 0,1 моль/л раствором гидроксида натрия (калия) или смесью 0,1 моль/л раствора хлороводородной кислоты и этанола в соотношении 1:1. Полученные растворы фотометрировали при длине волны равной 280 нм и рассчитывали молярные коэффициенты светопоглощения в щелочном и кислом растворах, которые использовали для количественного определения натрия диклофенака. Провели по восемь параллельных опытов, рассчитали массовую долю в процентах и полученные результаты статистически обработали. Относительная погрешность анализа не превышает $\pm 1,5\%$, что позволило разработать методику анализа натрия диклофенака в лекарственной форме. Методика: к навеске мази равной около 1,0 г (точная масса) прибавляют 50 мл этанола, полученную смесь перемешивают, переносят на воронку с фильтром «белая лента» вакуумного насоса и получают фильтрат. Далее к 1 мл полученного фильтрата добавляют 19 мл 0,1 моль/л раствора гидроксида натрия и измеряют оптическую плотность при длине волны 280 нм относительно раствора сравнения, полученному аналогичным способом из 1,0 г тизоля. Погрешность анализа натрия диклофенака находится в пределах допустимых норм и отклонений.

Для проведения фармакологических исследований использовали половозрелых животных самок и самцов по ровну: 540 белых крыс подтипа линии Wistar массой 170 – 260 г, 240 мышей массой 23 – 25 г, 30 морских свинок массой 320 – 350 г, 24 кролика породы «Шиншилла» массой 2550 – 2650 г. Животных содержали при температуре 18 - 20,5°C в условиях естественного светового цикла на стандартной диете, при свободном доступе к воде и пище. Для эксперимента отбирали только здоровых животных, прошедших двухнедельную адаптацию к условиям вивария. В исследованиях были применены методы, приведенные в руководстве по экспериментальному доклиническому изучению фармакологических веществ. На основании полученных данных установлено отсутствие «острой» токсичности при однократном введении новой композиции. При этом достоверных изменений со стороны исследуемых параметров крови не произошло, биохимические показатели крови остались в пределах нормальных величин. Гистологические исследования органов и тканей подтвердили от-

сутствие деструктивных, некробиотических изменений. Отсутствие «субхронической» и «хронической» токсичности было доказано тем, что изменения показателей периферической крови у животных, получавших новую лекарственную форму, носили благоприятный характер. Общий анализ крови подтвердил безопасность применения мази «Лидодиклозоль».

Методом кожных аппликаций, при оценке конъюнктивной пробы, показано отсутствие алергизирующего действия, опасности сенсibilизации мази «Лидодиклозоль» и местного раздражающего воздействия на кожу и слизистые оболочки. При применении изучаемой лекарственной формы не наблюдалось возникновения у животных эритемы и отека. Она не оказывает отрицательного влияния на поведенческие реакции крыс, связанные с функциональным состоянием центральной нервной системы, подтверждающим отсутствие кожнорезорбтивного действия.

Проведенные фармакологические исследования мази «Лидодиклозоль» показали, что она обладает специфической активностью:

- выраженным противоотечным действием, высокой анальгетической активностью (местная активность выше на 93% и 92%, а резорбтивная - на 24,8% и 27,4% во 2 - 4 часа наблюдения);
- резорбтивной жаропонижающей активностью;
- способствует ускорению сроков эпителизации ран, снижает число осложнений;
- приводит к быстрой нормализации параметров периферической крови.

В процессе длительного (15- и 30-ти дневного) применения мази «Лидодиклозоль» по оценке ее способности накапливаться в биологических тканях, вызывать раздражающее и алергизирующее действие и другие виды отрицательного действия выявить не удалось. При 30-ти дневном применении изучаемой мази выявлено стимулирующее влияние на эритропоз, которое сохранялось даже после двух недель по окончании ее введения. Этот эффект является положительным для красной крови. Использование нестероидных противовоспалительных средств в чистом виде нередко отрицательно сказывается на функциональном состоянии печени. Однако натрия диклофенак присутствующий в мази, не проявил побочного эффекта на печеночные ферменты крови, что является положительным фактом в безопасности применения предлагаемой лекарственной формы. Анализируя результаты исследований по влиянию лекарственных препаратов мази на функциональное состояние сердечнососудистой системы и внешнего дыхания, отрицательных проявлений выявлено не было. Изучение антиоксидантных свойств лекарственной формы показало защиту выраженности перекисного окисления липидов. Мазь «Лидодиклозоль» проявила антиоксидантный эффект, что особо важным является в торможении воспалительного процесса.

Для любого фармакологического вещества и перспективности его внедрения в клиническую практику важным является отсутствие мутагенного проявления. В этом аспекте новая лекарственная форма не проявила мутагенности, поэтому может быть использована при курсовом назначении. На заключительном этапе исследований, как правило, необходимо анализировать гистоструктуру ведущих висцеральных органов, которые наиболее чувствительны к ряду ксенобиотиков, в том числе и к фармакологическим веществам. В процессе выполнения данного



фрагмента исследований по изучению действия мази «Лидодиклозол» на морфоструктуру некоторых висцеральных органов, следует отметить, что она для них оказалась индифферентной, то есть безопасной при длительном применении. Таким образом, можно утверждать, что новая лекарственная форма, созданная на основе геля «Тизоль», является не токсичной, безопасной в применении с высоким уровнем противовоспалительного действия.

Проведенные доклинические исследования дают основание на получение разрешения Научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств Министерства здравоохранения Российской Федерации на клиническую апробацию новой лекарственной формы «Лидодиклозол», что позволит узаконить внедрение ее в медицинскую практику после оформления соответствующей нормативной документации.