

УДК 541.64:532.73

ИССЛЕДОВАНИЕ СКОРОСТИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ 5-ФТОРУРАЦИЛА ИЗ ЕГО КОМПЛЕКСА С ПРОТИВОСПАЕЧНЫМ «ЛИНТЕКС-МЕЗОГЕЛЕМ»

© 2015 В. А. Кузнецов¹, Г. В. Шаталов¹, А. Г. Трапикова¹, С. И. Провоторова¹, П. О. Кущев¹,
В. В. Хвостовой², О. Г. Фролова², И. Н. Звягин³

¹Воронежский государственный университет, Университетская пл., 1, 394006 Воронеж, Россия
e-mail: dr.v.kuznetsov@gmail.com

²Курский государственный медицинский университет, ул. К. Маркса, 3, 305041 Курск, Россия

³Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Курский онкологический диспансер»,
ул. Пирогова 20, 305035 Курск, Россия

Поступила в редакцию 04.09.2015 г.

Аннотация: Проведено биофармацевтическое исследование *in vitro* противоспаечного «Линтекс-Мезогеля» (КМЦ) с цитостатиком 5-фторурацилом. Показано, что полученные комплексы обладают пролонгированным действием. Причем степень пролонгирования зависит от добавок регуляторов скорости высвобождения препарата и pH среды.

Ключевые слова: цитостатики, 5-фторурацил, биофармацевтические исследования, канцероматоз брюшины.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственное лечение пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) по-прежнему остается актуальной задачей в практической онкологии.

Наиболее частыми формами опухолей ЖКТ является рак желудка, колоректальный рак, рак пищевода [1]. Комбинированный способ остается ведущим в лечении опухолей данной локализации, что позволяет добиться улучшения показателей выживаемости.

Многофакторность в развитии онкопатологии, поздняя обращаемость пациентов за медицинской помощью определяют факт первичного выявления опухолей ЖКТ на поздних стадиях заболевания — с наличием отдаленных и региональных метастазов, диссеминацией опухолевых клеток по брюшине и развитием перитониального канцероматоза [2, 3]. Любое оперативное лечение, как радикальное, так и паллиативное, сопровождается возникновением спаек брюшной полости, а при наличии канцероматоза брюшины формированием спаечно-опухолевых конгломератов. Таким образом, при хирургическом лечении пациентов с опухолями ЖКТ онкологи сталкиваются с решением вопроса о необходимости предупреждения имплантацион-

ного метастазирования опухолевых клеток, уменьшения выраженности спаечного процесса брюшной полости.

Возможным решением данной проблемы может быть использование противоспаечного препарата «Линтекс-Мезогель» (производство ООО «Линтекс», Санкт-Петербург), представляющего собой полимер на основе карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) и иммобилизованных на нем цитостатиков.

Уже более 40 лет в лекарственной терапии опухолей ЖКТ применяется 5-фторурацил (5ФУ). *Фторурацил* (химическое название — 5-Фтор-2,4-(1Н,3Н)-пиримидиндион и в виде натриевой соли) — является антиметаболитом группы структурных аналогов пиримидина. Препарат легко проходит гистогематические барьеры, включая гематоэнцефалический барьер, и распределяется по тканям (опухоль, костный мозг, печень и др.) и жидкостям организма (спинномозговая, внеклеточная). К побочным эффектам препарата можно отнести миелодепрессию, диспепсические расстройства, подавление реакций гуморального и клеточного иммунитета, функций репродуктивных органов.

Проявление токсичности, так или иначе, ограничивает практическое использование 5-фторураци-

ла, в связи с чем разработка эффективных, малотоксичных лекарственных форм цитостатиков с улучшенной биодоступностью и пролонгированным фармакологическим эффектом является актуальным вопросом фармакологии. Целью исследования являлись биофармацевтические исследования в разработке противоспаечного «Линтекс-Мезогеля» с 5-фторурацилом для профилактики и лечения канцероматоза брюшины, спаек брюшной полости у пациентов с опухолями ЖКТ.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектами исследования являлись образцы разработанных модельных составов «Линтекс-Мезогеля» с 5-фторурацилом и вспомогательными веществами (ПЭГ-400, Твин-80). Биофармацевтические исследования, отличающиеся дешевизной и малой затратой времени в сравнении с опытами *in vivo*, проводили методом диализа через полупроницаемую мембрану.

Техническое выполнение эксперимента *in vitro* определялось главным образом свойствами входящих компонентов модельного состава. Суть метода заключается в том, что исследуемый модельный состав отделен от водной среды полупроницаемой мембраной. Моделью полупроницаемой мембраны служил целлофан марки «Купрофан» с толщиной 0.09 мм, а в качестве акцепторных сред использовали среды с pH брюшной полости в зависимости от патологического процесса (вода очищенная pH 5.8 и буферный раствор pH 7.2). Аппаратурное оформление исследования максимально приближает условия опыта к условиям живого организма — это двухкамерная установка, разделенная мембраной. В одной из камер находится модельный образец, в другой — среда для диализа. 1.0 г образца (точная навеска) наносили на целлофановую пленку, которую затем неподвижно укрепляли на конце диализной трубки резинкой-обхваткой. Эксперимент проводили в трехкратном повторении для одного модельного образца следующего состава:

№ 1 — «Линтекс-Мезогель» с 5-фторурацилом; № 2 — «Линтекс-Мезогель» с 5-фторурацилом и 5 % Твин-80; № 3 — «Линтекс-Мезогель» с 5-фторурацилом и 1 % Твин-80; № 4 — «Линтекс-Мезогель» с 5-фторурацилом и 5 % ПЭГ-400; № 5 — «Линтекс-Мезогель» с 5-фторурацилом и 1 % ПЭГ-400.

Время проведения эксперимента — 28 дней, время отбора проб — через 1 сутки после начала испытания. После отбора среду растворения восполняли в соответствующем объеме. Пробы раз-

бавляли соответствующей средой растворения (вода очищенная pH 5.8 или буферный раствор pH 6.8), после чего фильтровали через бумажный фильтр типа «белая лента», отбрасывая первую порцию фильтрата.

Для количественного определения 5-фторурацила в диализате использовали метод УФ-спектрофотометрии. Данные УФ-спектроскопии получали на приборе «Shimadzu» (Япония) в кварцевых кюветах толщиной 1 см в диапазоне 190—300 нм. Параметры регистрации: ширина щели 05 мм, режим *slow*, интервал регистрации 05 нм.

ИК-спектры регистрировали на приборе Bruker Vertex 70 с приставкой DIKE Miracle с Фурье преобразователем методом НПВО. Условия сканирования: 64 сканирования, разрешение 4 см⁻¹, в интервале 4000—550 см⁻¹.

Поскольку УФ-спектроскопия является эталонным методом, то для последующих расчетов необходим стандартный расчетный образец. В качестве него использовали 1 % раствор исследуемого препарата и рассчитывали по формуле:

$$E_{cp} = \frac{D}{C \cdot v},$$

где E_{cp} — удельный показатель поглощения вещества; D — оптическая плотность испытуемого раствора; C — концентрация вещества в г/100 мл; v — толщина поглощающего слоя, см.

Концентрацию лекарственного вещества в диализате определяли по формуле:

$$C_{\text{высвобождения}} = \frac{D \cdot AV \cdot 100}{E_{cp} \cdot q \cdot p},$$

где D — измеренная оптическая плотность в пробе диализата; A — разведение, мл; V — общий объем диализата, мл; E_{cp} — удельный показатель поглощения вещества; q — объем диализата, взятый для анализа; p — доза лекарственного вещества, мг.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ полученных результатов эксперимента, представленный на рис. 1, 2, дает основание считать, что использование 5-фторурацила иммобилизованного в структуру противоспаечного «Линтекс-Мезогеля» с введением или без вспомогательных веществ дает возможность разработать оптимальный состав для эффективной лекарственной формы с пролонгированным фармакологическим эффектом, что закономерно наблюдается по скорости высвобождения 5-фторурацила в диализную среду. Введение в состав мезогеля с 5-фторурацилом таких вспомогательных веществ, как твин-80 (полиоксиэтилен(20) сорбитан моноолеат с моляр-

ной массой 1226 г/моль) и ПЭГ 400 (полиэтиленгликоль) в концентрации 1 % и 5 % увеличивает концентрацию и скорость высвобождения 5-фторурацила в буферном растворе. При этом следует отметить, что высвобождение 5-фторурацила в присутствии твин-80 в концентрации 5 % до седьмого дня постепенное и без пиковых концентраций,

а начиная с восьмого дня (состояние после хирургического лечения пациентов с опухолями ЖКТ) концентрация увеличивается. Важным результатом является и значение рН акцепторной среды, дающее основание считать, что при меньшем воспалительном процессе в брюшной полости идет более медленное высвобождение 5-фторурацила.

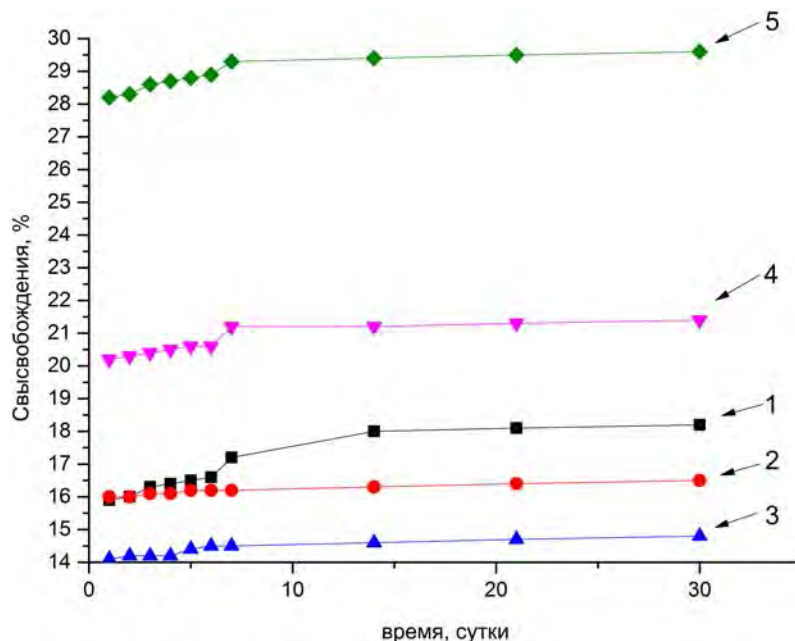


Рис. 1. Зависимость скорости высвобождения 5-ФУ от времени из комплекса с КМЦ в водном растворе:

1 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ; 2 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ и 5 % твин-80; 3 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ и 1 % твин-80; 4 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ и 5 % ПЭГ-400; 5 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ и 1 % ПЭГ-400

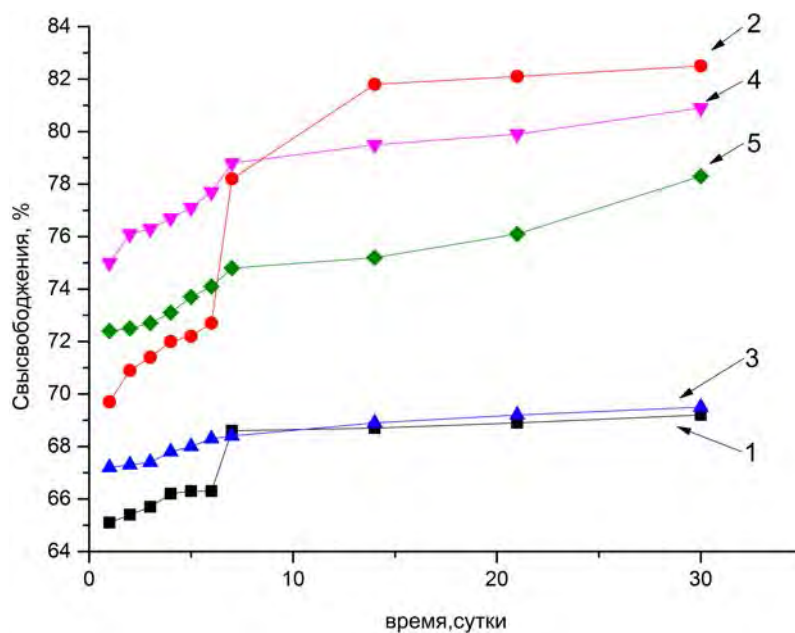


Рис. 2. Зависимость скорости высвобождения 5-ФУ от времени из комплекса с КМЦ в буферном растворе:

1 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ; 2 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ и 5 % твин-80; 3 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ и 1 % твин-80; 4 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ и 5 % ПЭГ-400; 5 — «Линтекс-Мезогель» с 5-ФУ и 1 % ПЭГ-400

В выполненной ранее работе [5] показано, что по данным ИК-спектроскопии 5-фторурацила содержатся полосы поглощения в области 1642 см^{-1} (валентные колебания $>\text{C}=\text{O}$ группы пиримидинового цикла) и $3110\text{—}3180\text{ см}^{-1}$ (валентные колебания OH групп, содержащихся в водном растворе 5-фторурацила в енольной форме). ИК-спектр смеси 5-фторурацила с КМЦ (рис. 3, кривая 3) содержат также указанные полосы поглощения, что и в исходных веществах. Однако интенсивность полос поглощения существенно меньше, что указывает на невалентное связывание карбонильных групп молекул 5-фторурацила с макромолекулами

карбоксильной и гидроксильной групп КМЦ посредством системы водородных связей в полимергидратной оболочке. На это же указывает незначительное смещение полосы поглощения карбонильных групп 1642 см^{-1} (5-фторурацила) и $1620\text{—}1630\text{ см}^{-1}$ (КМЦ) до 1636 см^{-1} в смеси. Данный факт подтверждают данные УФ-спектроскопии. Наблюдается заметное изменение интенсивности полосы поглощения в области 260 нм при одинаковой концентрации 5-фторурацила в водном растворе и в смеси с КМЦ (рис. 4), не имеющего полосы поглощения в данной области, что свидетельствует об образовании слабых комплексов.

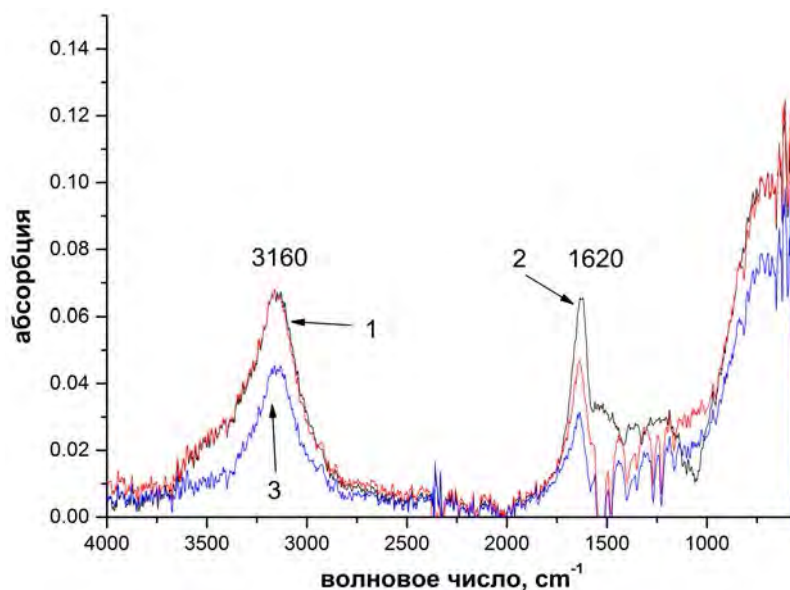


Рис. 3. ИК-спектры 5- фторурацила (1), КМЦ (2) и комплекса 5-фторурацил-КМЦ (3)

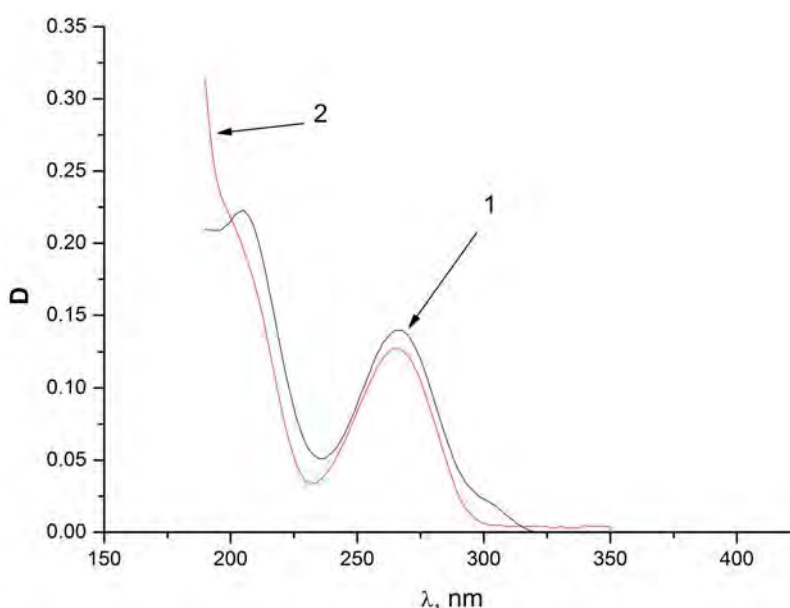
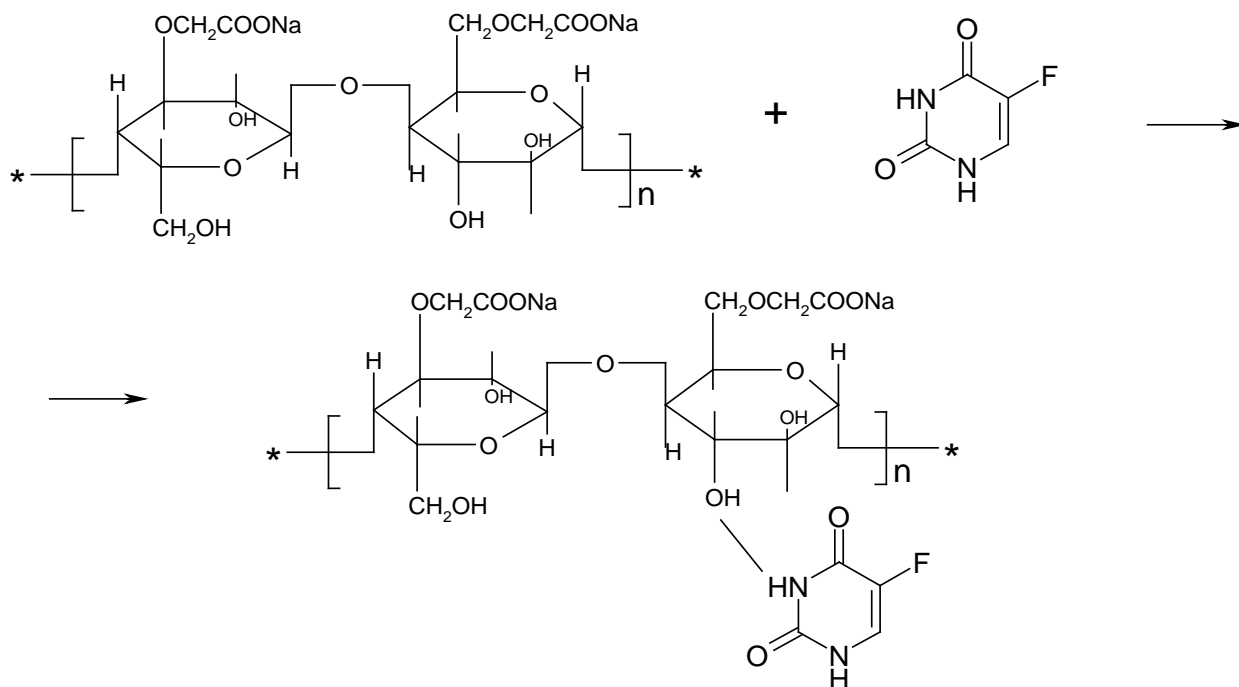


Рис. 4. УФ-спектры 5-фторурацила (1), смеси 5-фторурацил-КМЦ (2)

Схему предполагаемого комплекса можно представить следующим образом:



Незначительное смещение полос поглощения свидетельствует об образовании слабых комплексов, способных легко разрушаться. При добавлении в смесь КМЦ-5-фторурацил твин 80 и ПЭГ степень смещения валентных колебаний карбонильной группы смещается до 1638 см^{-1} . Это указывает на ослабление комплекса КМЦ-5-фторурацил, что связано, по-видимому, с образованием более прочных интерполимерных комплексов КМЦ-ПЭГ и КМЦ-твин 80.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при проведении биофармацевтических исследований методом диализа через полупроницаемую мембрану было изучено влияние акцепторных сред и концентрации вспомогательных веществ на высвобождение 5-фторурацила из разработанного модельного состава. Установлено, что оптимальной средой для высвобождения является буферный раствор со значением pH 7.2 и концентрация твин-80 — 5 %.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания ВУзам в сфере научной деятельности на 2014—2016 годы. Проект № 1296.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каприн А. Д., Старинский В. В., Петрова Г. В. *Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность)*. Москва, МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П. А. Герцена» Минздрава России, 2015, 250 с.
2. Sugarbaker P. H. // *Curr. Opin. Oncol*, 2005, vol. 17, pp. 397—399.
3. Yang S. H., Lin J. K., Lai C. R., et al. // *J. Surg. Oncol*, 2004, vol. 87, pp. 167—173.
4. Бардаков А. И., Литвин А. А., Сливкин А. И. *Биофармацевтические подходы в разработке и оценке готовых лекарственных форм*. Воронеж, ИПЦ ВГУ, 2007, 128 с.
5. Сычев М. Д., Киселев И. Л., Дронов С. П., Хвостовой В. В. и др. // *Вестник клинической и экспериментальной хирургии*, 2015, № 1, с. 82—86.

VELOCITY OF RELEASE STUDY OF 5-FLUOROURACIL FROM THEM COMPLEX WITH ANTIADHESIVION «LINTEKS—MEZOGEL»

© 2015 V. A. Kuznetsov¹, G. V. Shatalov¹, A. G. Trapikova¹, S. I. Provotorova¹, P. O. Kushchev¹,
V. V. Khvostovoy², O. G. Frolova², I. N. Zvyagin³

¹Voronezh State University, Universitetskaya sq., 1, 394006 Voronezh, Russia
e-mail: dr.v.kuznetsov@gmail.com

²Kursk State Medical University, 3 Karl Marx st., 305041 Kursk, Russia

³Kursk Regional Clinical Oncology Center, 20 Pirogov st., 305035 Kursk, Russia

Received 04.09.2015

Abstract: The formation of complexes of carboxymethylcellulose and 5-fluorouracil are investigated by FTIR- and UV-spectroscopy. Bonds are formed due to the free hydroxyl groups of the carboxymethylcellulose and the carbonyl and amino groups of 5-fluorouracil with water molecules in the system. The kinetics of the release of cytotoxic drugs out of their complexes with the carboxymethylcellulose has been study. It is shown that these complexes have a prolonged effect. The degree of prolongation depends on the additives controls the release rate of the drug and pH. The best performance was at pH = 7.2. Investigation of the influence of the nature of the release knob has shown that the greatest effect on the rate of release of 5-fluorouracil has Twin-80 at a concentration of 5 %.

Keywords: cytotoxic agents, 5-fluorouracil, biopharmaceutical research, peritoneal carcinomatosis.

REFERENCES

1. Kaprin A. D., Starinskii V. V., Petrova G. V. *Zloko-achestvennyye novoobrazovaniya v Rossii v 2013 godu (za-bolevaemost' i smertnost')*. Moscow, MORI — P. Herzen Moscow Oncology Research Institute, 2015, 250 p.

2. Sugarbaker P. H. *Curr. Opin. Oncol.*, 2005, vol. 17, pp. 397—399.

3. Yang S. H., Lin J. K., Lai C. R., et al. // *J. Surg. Oncol.*, 2004, vol. 87, pp. 167—173. DOI 10.1002/jso.20109

4. Bardakov A. I., Litvin A. A., Slivkin A. I. *Biofarmatsevticheskie podkhody v razrabotke i otsenke gotovykh lekarstvennykh form.* Voronezh, PPC VSU Publ., 2007, 128 p.

5. Sychov M.D, Kiselev I. L., Dronov S. P., Khvostovoi V. V., et al. *Vestnik of experimental and clinical surgery*, 2015, no. 1, pp. 82—86.

Кузнецов Вячеслав Алексеевич — д. х. н., профессор кафедры химии высокомолекулярных соединений и коллоидов, Воронежский государственный университет; тел.: +7(473) 2208956, e-mail: dr.v.kuznetsov@gmail.com

Шаталов Геннадий Валентинович — д. х. н., профессор, заведующий кафедрой химии высокомолекулярных соединений и коллоидов, Воронежский государственный университет; тел.: +7 (473) 2208956

Трапикова Алина Геннадиевна — магистрант химического факультета, Воронежский государственный университет; тел.: +7 (473) 2208956

Провоторова Светлана Ильинична — к. ф. н., доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, Воронежский государственный университет; e-mail: provotorova-svetlana@mail.ru

Kuznetsov Vyacheslav A. — Dr. Sci. (Chem.), Full Professor of Polymer Sciences and Colloids Department, Voronezh State University; ph.: +7(473) 2208956, e-mail: dr.v.kuznetsov@gmail.com

Shatalov Gennady V. — Dr. Sci. (Chem.), Full Professor, Head of Polymer Sciences and Colloids Department, Voronezh State University; e-mail: vms159@mail.ru

Trapikova Alina G. — student of Chemical Faculty, Voronezh State University; e-mail: vms159@mail.ru

Provotorova Svetlana I. — Cand. Sci. (Pharm.), Associative Professor of Chair of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology, Voronezh State University; e-mail: provotorova-svetlana@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ СКОРОСТИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ 5-ФТОРУРАЦИЛА ИЗ ЕГО КОМПЛЕКСА...

Куцев Петр Олегович — аспирант химического факультета, Воронежский государственный университет, тел.: +7 (473)2208956

Хвостовой Владимир Владимирович — к. м. н., доцент кафедры онкологии, Курский государственный медицинский университет; e-mail: kursk_ood@mail.ru

Фролова Оксана Геннадьевна — к. м. н., ассистент кафедры онкологии, Курский государственный медицинский университет; e-mail: nixonfrol@mail.ru

Звягин Иван Николаевич — врач-ординатор хирургического отделения, Курский областной клинический онкологический диспансер

Kushchev Petr O. — post graduate student of Chemical Faculty, Voronezh State University; e-mail: peter.kuschev@gmail.com

Khvostovoy Vladimir V. — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Oncology, Kursk State Medical University; e-mail: kursk_ood@mail.ru

Frolova Oksana G. — Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Department of Oncology, Kursk State Medical University; e-mail: nixonfrol@mail.ru

Zvyagin Ivan N. — doctor-intern of Surgical Department, Kursk Regional Clinical Oncology Center; e-mail: nixonfrol@mail.ru