

Б. С. Бурлака¹, І. Ф. Бєленічев¹, Ал Зедан Фаді¹, Е. В. Супрун²

Дослідження впливу полісорбату-80 на біофармацевтичні та реологічні властивості назальної лікарської форми з антагоністом інтерлейкіну-1 β (IL-1Ra)

¹Запорізький державний медичний університет²Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: біофармація, реологія, інтраназальна форма, антагоніст інтерлейкіну-1 β (IL-1Ra)

Останнім часом назальний шлях введення широко використовується в дослідженнях з метою створення препаратів для транспортування активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) різної фармакологічної дії. Перспективність даного напрямку зумовлена наявністю в назальній порожнині тонкого епітеліального шару клітин з відносно великою площею поглинання та розгалуженою системою капілярів, які сприяють швидкому поглинанню діючих речовин [1, 2].

За результатами досліджень були розроблені численні назальні засоби з наркотичними та ненаркотичними анальгетиками (морфіном, фентанілом, буторфанолом, кеторолаком, мелоксикамом, ібупрофеном), гормональними препаратами (інсуліном, окситоцином, дексаметазоном), серцево-судинними засобами (амлодипіном, верапамілом, бісопрололом, еналаприлом, дилтіаземом, каптоприлом), вітамінами (ціанокобаламіном). Допоміжними речовинами в таких формах були мукоадгезивні полімери (хітозан, похідні целюлози), поверхневоактивні сполуки (твіні, лаурил сульфат натрію, олеїнова кислота, циклодекстрини (α , β), амінований

желатин), співрозчинники (гліцерин, пропіленгліколь, D-пантенол). Як технологічні прийоми виготовлення застосовували мікросфери, нано- та мікроемульсії, суспензії [3–7].

У разі розробки нових назальних лікарських засобів системної дії необхідно враховувати різноманіття біологічних, фізико-хімічних і технологічних факторів, які ймовірно впливатимуть на транспортування АФІ до системного кровотоку. На кафедрах технології ліків і фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету в попередніх комплексних фізико-хімічних, мікробіологічних і технологічних дослідженнях розроблено склад нової інтраназальної форми, рецептура якої містить: IL-1Ra, натрій КМЦ, D-пантенол, бензалконію хлорид, трилон Б, полісорбат-80, фосфатний буферний розчин – рН 6,0 (ДФУ 2) [8, 9].

Враховуючи ймовірність впливу різних концентрацій енхансера назальної адсорбції полісорбату-80 на консистентні властивості та інтенсивність вивільнення АФІ з назальної форми, актуальним є проведення біофармацевтичних і реологічних досліджень.

Мета дослідження – вивчити вплив полісорбату-80 на біофармацевтичні та реологічні властивості назальної лікарської форми з антагоністом інтерлейкіну-1 β .

Матеріали та методи. Як матеріали використовували розроблену нами інтраназальну лікарську форму такого складу: ІЛ-1Ra, натрій КМЦ, D-пантенол, бензалконію хлорид, трилон Б, полісорбат-80, фосфатний буферний розчин – рН 6,0 (ДФУ 2).

Біофармацевтичні дослідження, *in vitro*, проводили за планом однофакторного дисперсійного аналізу з повторними спостереженнями, змінний фактор (А) – різна концентрація полісорбату-80 у досліджуваній назальній формі (А1 – 0 %, А2 – 0,5 %, А3 – 1 %, А4 – 2 %, А5 – 3 %). У кожній чарунці експерименту було по 3 повтори. Параметром оптимізації обрали визначену концентрацію активної речовини в діалізаті (воді очищеній) після 30 хв рівноважного діалізу крізь напівпроникну мембрану – целофанову плівку «Купрофан» у вертикальних чарунках дифузії Франца (PermeGear, Inc., США). Температурний режим дослідження ($37,0 \pm 0,2$) °С забезпечувався циркуляційним водяним термостатом (Thermo Scientific HAAKE SC100-S5P).

Концентрацію антагоніста інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1Ra) у назальних формах визначали за адаптованою спектрофотометричною методикою (ультрафіолетова область, довжина хвилі 280 нм) на спектрофотометрі UV-2600, (Shimadzu Corporation, Японія) [10].

Реологічні дослідження проводили на модульному компактному реометрі MCR 302 (Anton Paar GmbH). Для проведення ротаційних тестів використовували коаксіальні циліндри CC27/T200/SS як вимірювальний пристрій. У нижній статичний циліндр поміщали наважку назальної лікарської форми до відповідної заводської відмітки. Виконували ініціалізацію приладу та вказували температуру дослідження ($37,0 \pm 0,5$) °С, яка забезпечувалась вбудованим термостатом

(Peltier temperature control for concentric cylinder systems, C-PTD 200).

Протягом усього дослідження програмне забезпечення (Rheo Compass) реєструвало показники швидкості зсуву (Shear rate $\dot{\gamma}$, s^{-1}), напруги зсуву (Shear stress τ , Pa) та в'язкості (viscosity η , Pas (mPas)). Отримані результати відображались як табличні дані та візуалізувались у реограмах плинину. Алгоритм методики полягав у наступному: перед початком вимірювання верхній рухомий циліндр занурювали в статичний циліндр з попередньо внесеною наважкою дослідного назального засобу. Чекали до стабілізації температури в системі, далі поступово збільшували швидкість обертання верхнього циліндра від 1 до 500 (s^{-1}). Потім на максимальній швидкості обертання циліндра протягом 10 хв руйнували дослідний зразок, далі припиняли руйнування та чекали протягом 10 хв для відновлення системи. Після відновлення системи дослідження проводили в зворотному напрямку – від максимальної швидкості обертання циліндра до мінімальної.

Статистичну обробку результатів проводили з застосуванням стандартного статистичного пакета ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» і «MS Excel 2010». Статистично значущою вважали різницю за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Перед початком запланованих біофармацевтичних і реологічних досліджень виготовляли зразки інтраназальних гелів з антагоністом інтерлейкіну-1 β та іншими компонентами. Зразки відрізнялись між собою різною концентрацією полісорбату-80 (фактор А). Отримані гелі залишали на добу в прохолодному місці за температури 2–8 °С з метою

стабілізації структури гелю та нівелювання температури зовнішнього середовища на структурно-механічні властивості.

Далі проводили біофармацевтичні дослідження. Наважку виготовлених зразків назальних гелів кількісно вносили до донорних камер чарунок пристрою дифузії Франца. Через встановлений проміжок часу відбирали аліквоту гідролізату з акцепторної камери пристрою дифузії Франца та кількісно визначали концентрацію діючої речовини в діалізаті. Отримали наступні результати (табл. 1).

Отримані результати підлягали дисперсійному аналізу з метою встановлення можливого впливу фактора А на динаміку вивільнення ІЛ-1Ra з модельних назальних форм. Отримані дані наведено в таблиці 2.

Як видно з наведених результатів, дисперсійного аналізу $F_{\text{експерим.}} > F_{\text{табл.}}$, тобто вміст полісорбату-80 чинить значимий вплив на вивільнення антагоніста (табл. 2). Для визначення оптимальної концентрації полісорбату-80 у назальних формах використовували множинний

ранговий критерій Дункана, за допомогою якого побудовано ряд переваг:

$$2 \% (3 \%) > 1 \% > 0,5 \% > 0 \%$$

На наступному етапі проводили реологічні дослідження дослідних зразків назальних гелів з антагоністом інтерлейкіну-1 β . Отримали реограми плинину в координатах залежності напруги зсуву від швидкості зсуву, які мають висхідні та низхідні криві з нелінійним характером течії, та петлями гістерезису (рисунок). Висхідні криві характеризують реологічні властивості зразків у разі збільшення швидкості обертання. Низхідні криві відображають реологічні властивості при зменшенні швидкості обертання.

Згідно з даними реограм, петлі гістерезису свідчать про наявність тиксотропних властивостей, тобто можливість відновлення систем після прикладеної напруги, наприклад, у промисловому виробництві після технологічних процесів перемішування, гомогенізації та пакування. Характер отриманих кривих характеризує назальні зразки як неньютонівські

Таблиця 1

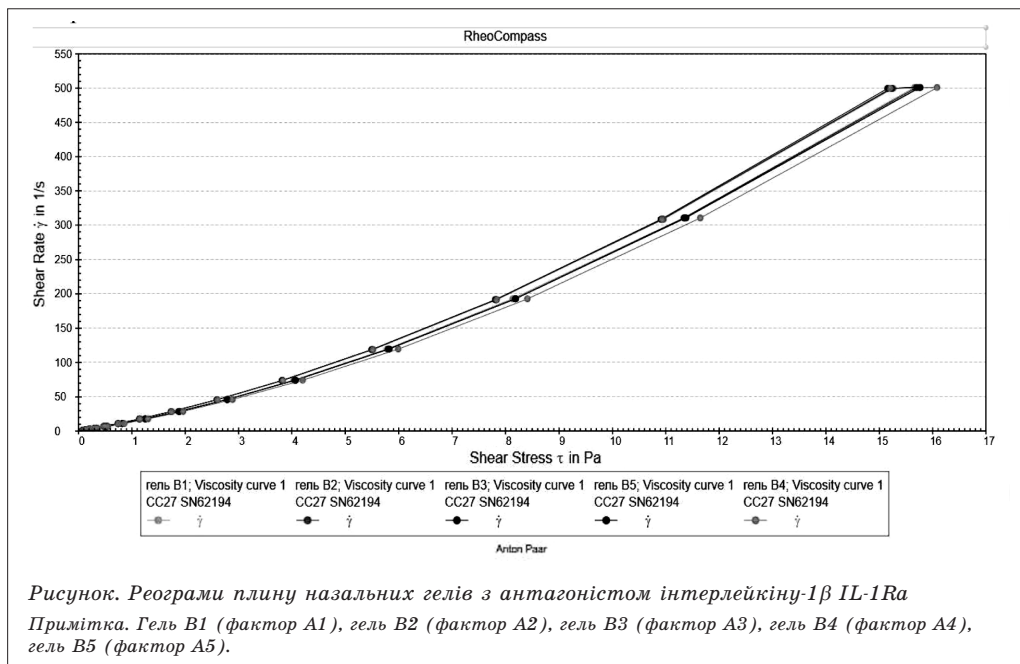
Матриця планування та результати дослідження концентрації активної речовини в діалізаті

№	Концентрація активної речовини (ІЛ-1Ra) у діалізаті, мг/мл				
	A1	A2	A3	A4	A5
1	0,42	0,5	0,58	0,61	0,61
2	0,4	0,5	0,55	0,62	0,61
3	0,4	0,52	0,56	0,63	0,62
$\bar{x} \pm \Delta x$	0,4060 \pm 0,0497	0,5060 \pm 0,0497	0,5630 \pm 0,0657	0,620 \pm 0,0430	0,6130 \pm 0,0248

Таблиця 2

Результати дисперсійного аналізу експерименту

Джерело мінливості	Сума квадратів (SS)	Число ступенів свободи (f)	Середній квадрат (MS)	$F_{\text{експерим.}}$	$F_{\text{табл.}}$
Фактор А (полісорбат-80)	0,0935	4	0,0233	184,68	3,5
Помилка	0,001	10	0,0001	-	-
Загальна сума	0,0948	14	-	-	-



рідини з низькими показниками в'язкості, в яких тривала механічна обробка суттєво не впливає на якість. Реологічні характеристики дослідних гелів свідчать про недоцільність використання упаковки у вигляді туб у зв'язку можливим надмірним витіканням препарату при застосуванні.

Проводили вивчення впливу фактора А на характеристику реологічних показників назальних лікарських форм (табл. 3). Параметром оптимізації експерименту обрали площу петлі гістерезису (Pa/s).

Відповідно до отриманих даних однофакторного дисперсійного аналізу встановили, що фактор А в даній рецептурі ($F_{\text{експерим.}} < F_{\text{табл.}}$) достовірно не впливає на структурно-механічні (тиксотропні) властивості.

Висновки

1. Проведено дослідження щодо вивчення впливу полісорбату-80 на біофармацевтичні та реологічні властивості назальної лікарської форми з IL-1Ra.
2. У результаті біофармацевтичних досліджень встановлено, що полісорбату-80 достовірно впливає на інтенсивність вивільнення IL-1Ra з інтраназального засобу. Оптимальна концентрація полісорбату-80 у розробленій назальній формі – 2 %.
3. Реологічними дослідженнями виявлено, що полісорбату-80 у концентраціях від 0 до 3 % достовірно не впливає на структурно-механічні властивості розробленої назальної лікарської форми.

Таблиця 3

Результати дисперсійного аналізу експерименту

Джерело мінливості	Сума квадратів (SS)	Число ступенів свободи (f)	Середній квадрат (MS)	$F_{\text{експерим.}}$	$F_{\text{табл.}}$
Фактор А (полісорбат-80)	2,2666	4	0,5666	0,62832	3,5
Помилка	9,0186	10	0,9018	-	-
Загальна сума	11,2853	14	-	-	-

1. Rohrer J., Lupo N., Bernkop-Schnürch A. Advanced formulations for intranasal delivery of biologics. *Int J Pharm.* 2018. V. 553 (1–2). P. 8–20.
2. Цитокинова терапія в комплексному лікуванні цереброваскулярних захворювань: стан, перспективи досліджень. Е. В. Супрун, І. С. Чекман, І. Ф. Беленічев та ін. *Раціональна фармакотерапія.* 2017. № 1 (42). С. 19–30.
3. Изучение влияния основы-носителя на биофармацевтические свойства назальной лекарственной формы дилтиазема. В. В. Гладышев, Г. К. Кучина, Б. С. Бурлака и др. *Запорожский медицинский журнал.* 2013. № 2. С. 87–90.
4. Изучение реологических свойств назальной лекарственной формы каптоприла. Ж. А. Алмохамад, В. В. Гладышев, Б. С. Бурлака и др. *Запорожский медицинский журнал.* 2013. № 6. С. 80–82.
5. *Tashima T. Shortcut Approaches to Substance Delivery into the Brain Based on Intranasal Administration Using Nanodelivery Strategies for Insulin. Molecules.* 2020. V. 25 (21). P. 5188.
6. Improving the precision of intranasal oxytocin research. A. Winterton, L. T. Westlye, N. E. Steen et al. *Nat Hum Behav.* 2021. V. 5(1). P. 9–18.
7. Review of Intranasally Administered Medications for Use in the Emergency Department. A. M. Bailey, R. A. Vaum, K. Horn et al. *J Emerg Med.* 2017. V. 53 (1). P. 38–48.
8. Обґрунтування вибору допоміжних речовин для створення інтраназального гелю рецепторного антагоніста інтерлейкіна-1 β (IL-1Ra). Б. С. Бурлака, І. Ф. Беленічев, В. В. Гладышев та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2020. Т. 13. № 2 (33). С. 254–259.
9. Бурлака Б. С. Оптимізація складу назального лікарського засобу з антагоністом інтерлейкіну-1 β . *Фармацевтичний журнал.* 2021. № 1. С. 43–49.
10. Розробка методики спектрофотометричного визначення рекомбінантного рецепторного антагоніста інтерлейкіну-1 людини в напівфабрикаті-розчині. К. П. Медведєва, Б. С. Бурлака, В. В. Бугайова та ін. *Фармацевтичний часопис.* 2019. № 4. С. 29–36.

Б. С. Бурлака, І. Ф. Беленічев, Ал Зедан Фаді, Е. В. Супрун
Дослідження впливу полісорбату-80 на біофармацевтичні та реологічні властивості назальної лікарської форми з антагоністом інтерлейкіну-1 β (IL-1Ra)

Мета дослідження – вивчити вплив полісорбату-80 на біофармацевтичні та реологічні властивості назальної лікарської форми з антагоністом інтерлейкіну-1 β .

Як матеріали використовували розроблену нами інтраназальну лікарську форму з IL-1Ra. Біофармацевтичні дослідження *in vitro* проводили за планом однофакторного дисперсійного аналізу з повторними спостереженнями, змінний фактор (А) – різна концентрація полісорбату-80 в досліджуваній назальній формі (А1 – 0 %, А2 – 0,5 %, А3 – 1 %, А4 – 2 %, А5 – 3 %). Параметром оптимізації обрали визначену концентрацію активної речовини в діалізаті (воді очищеній) після 30 хв рівноважного діалізу крізь напівпроникну мембрану – целофанову плівку «Купрофан» у вертикальних чарунках дифузії Франца (Perme Gear, Inc., США).

Реологічні дослідження проводили на модульному компактному реометрі MCR 302 (Anton Paar GmbH). Для проведення ротаційних тестів використовували коаксіальні циліндри CC27/T200/SS як вимірювальний пристрій. Виконували ініціалізацію приладу та вказували температуру дослідження ($37,0 \pm 0,2$ °C), яка забезпечувалась вбудованим термостатом (Peltier temperature control for concentric cylinder systems, C-PTD 200). Протягом усього дослідження програмне забезпечення (Rheo Compass) реєструвало показники швидкості зсуву (Shear rate $\dot{\gamma}$, s^{-1}), напруги зсуву (Shear stress τ , Pa) та в'язкості (viscosity η , Pa·s (mPas)). Отримані результати відображалися як табличні дані та візуалізувались у реограмах плинку.

У результаті досліджень встановлено, що полісорбат-80 достовірно впливає на інтенсивність вивільнення IL-1Ra з інтраназального засобу. Оптимальна концентрація полісорбату-80 у розробленій назальній формі – 2 %. Виявлено, що полісорбат-80 у концентрації від 0 до 3 % достовірно не впливає на характер структурно-механічних властивостей розробленої назальної лікарської форми.

Ключові слова: біофармація, реологія, інтраназальна форма, антагоніст інтерлейкіну-1 β (IL-1Ra)

Б. С. Бурлака, І. Ф. Беленічев, Ал Зедан Фаді, Е. В. Супрун
Исследование влияния полисорбата-80 на биофармацевтические и реологические свойства назальной лекарственной формы с антагонистом интерлейкина-1 β (IL-1Ra)

Цель исследования – изучить влияние полисорбата-80 на биофармацевтические и реологические свойства назальной лекарственной формы с антагонистом интерлейкина-1 β .

В качестве материалов использовали разработанную нами интраназальную лекарственную форму с IL-1Ra. Биофармацевтические исследования *in vitro* проводили по плану однофакторного

дисперсионного аналізу з повторними спостереженнями, змінний фактор (А) – різна концентрація полісорбату-80 в досліджуваній назальній формі (А1 – 0 %, А2 – 0,5 %, А3 – 1 %, А4 – 2 %, А5 – 3 %). Параметром оптимізації вибрали концентрацію активної речовини в діалізаті (воді очищеній) після 30 хв рівноважного діалізу через напівпроникну мембрану – целлофанову плівку «Купрофан» в вертикальних клітинках дифузії Франца (Perme Gear, Inc., США).

Реологічні дослідження проводили на модульному компактному реометрі MCR 302 (Anton Paar GmbH). Для проведення ротационних тестів в якості вимірювального пристрою використовували коаксіальні циліндри CC27/T200/SS. Виконували ініціалізацію пристрою і вказували температуру дослідження ($37,0 \pm 0,5$ °C), яка забезпечувалась вбудованим термостатом (Peltier temperature control for concentric cylinder systems, C-PTD 200). В процесі всього дослідження програмне забезпечення (RheoCompass) реєструвало показники швидкості сдвигу (Shear rate $\dot{\gamma}$, s⁻¹), напруження сдвигу (Shear stress τ , Pa) і в'язкості (viscosity η , Pas (mPas)). Отримані результати відображались в табличних даних і візуалізувались в реограмах течення.

В результаті досліджень встановлено, що полісорбат-80 достовірно впливає на інтенсивність высвобождения ІЛ-1Ra з інтраназального засобу. Оптимальна концентрація полісорбату-80 в розробленій назальній формі – 2 %. Виявлено, що полісорбат-80 в концентраціях від 0 до 3 % достовірно не впливає на характер структурно-механічних властивостей розробленої назальної лікарської форми.

Ключові слова: біофармація, реологія, інтраназальна форма, антагоніст інтерлейкіну-1 β (IL-1Ra)

B. S. Burlaka, I. F. Belenichev, Al Zedan Fadi, E. V. Suprun

Study of the effect of polysorbate-80 on the biopharmaceutical and rheological properties of the nasal dosage form with interleukin-1 β antagonist (IL-1Ra)

The aim of the study – to evaluate the effect of polysorbate-80 on the biopharmaceutical and rheological properties of the nasal dosage form with the interleukin-1 β antagonist.

The intranasal dosage form with IL-1Ra was used as materials. Biopharmaceutical studies *in vitro* were performed according to the plan of one-way analysis of variance with repeated observations, variable factor (A) – different concentration of polysorbate-80 in the studied nasal form (A1 – 0 %, A2 – 0,5 %, A3 – 1 %, A4 – 2 %, A5 – 3%). As an optimization parameter was the concentration of the active substance in the dialysate (purified water) after 30 min of equilibrium dialysis through a semipermeable membrane – cellophane film «Kuprofan» in the vertical cells of the Franz diffusion nine-position station (Perme Gear, Inc., USA).

Rheological studies were performed on a modular compact rheometer MCR 302 (Anton Paar GmbH). Coaxial cylinders CC27/T200/SS were used as a measuring device for rotary tests. The instrument was initialized and the test temperature ($37,0 \pm 0,5$ °C) provided by the built-in thermostat (Peltier temperature control for concentric cylinder systems, C-PTD 200) was indicated. Throughout the study, the software (Rheo Compass) recorded Shear rate $\dot{\gamma}$, (s⁻¹), Shear stress τ , Pa, and viscosity η , Pas (mPas). The results obtained were displayed in tabular data and visualized in flow rheograms.

Studies have shown that polysorbate-80 significantly affects the intensity of IL-1Ra release from the intranasal form. The optimal concentration of polysorbate-80 in the developed nasal form is 2 %. It was found that polysorbate-80 in concentrations from 0 to 3 % does not significantly affect the nature of the structural and mechanical properties of the developed nasal dosage form.

Key words: biopharmacy, rheology, intranasal form, interleukin-1 β (IL-1Ra) antagonist

Надійшла: 22 січня 2021 р.

Прийнята до друку: 23 лютого 2021 р.

Контактна особа: Бурлака Богдан Сергійович, доцент, кафедра технології ліків, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035.
Тел.: + 38 0 66 281 76 73.