

УДК 543.83:628.314.3

Т. І. Давиденко, Г. І. Бондаренко

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,

кафедра фармацевтичної хімії,

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України,

відділ фізико-хімічних основ біотехнології

ВКЛЮЧЕННЯ 2-БРОМ-2-НІТРОПРОПАНДІОЛУ-1,3 В ПОЛІ-N-ВІНІЛКАПРОЛАКТАМ

Показано можливість формування гідрогелевих гранул із полі-N-вінілкапролактаму (ПВК) з використанням 4%-ного водного розчину 2-бром-2-нітропропандіолу-1,3 (бронополу) при 40°C. Методами ЯМР ^{13}C та ІЧ-спектроскопії встановлено, що включення бронополу відбувається за рахунок утворення зв'язків між карбонільною групою капролактамних ланок та гідроксильними групами бронополу. Добавки поліетиленгліколів дозволяють змінювати розмір гранул швидкість виходу з них бронополу та понизити концентрацію стабілізуючого розчину бронополу з 4% до 2%.

Ключові слова: Полі-N-вінілкапролактан, стабілізація, бронопол, поліетиленоксиди, желатина.

За останні роки все ширше розглядаються різні способи поєднання біологічно активних речовин (у тому числі і лікарських) з полімерами чи біологічними агентами, а також імітація структур, що функціонують у живих організмах. При цьому утворюються нові форми, здібні до підконтрольного вивільнення лікарських речовин, покращення їх біофармацевтичної дії, зменшення подразнюючої дії, зміни здатності до проходження через гематоенцефалічний бар'єр [1,2]. Серед водорозчинних синтетичних полімерів, з яких можна формувати гідрогелі у вигляді гранул інтерес представляє полі-N-вінілкапролактан (ПВК), який має ряд цікавих, а в деякому відношенні унікальних властивостей: високу гідрофільність, широкий діапазон розчинності, відсутність токсичності, яскраво виражену схильність до комплексоутворення, хороші адгезивні властивості [3,4]. В плані ж формування біологічно активних матриць ПВК привернув увагу дослідників тільки останнім часом.

У роботі розглянуто новий підхід до формування гідрогелевих гранул із ПВК, заснований на використанні бронополу як стабілізатору, що дало змогу одержувати комплексні препарати пролонгованої дії з антимікробними властивостями, враховуючи, що відмінною рисою бронополу є висока антимікробна активність до синьогнійної палички, яка погано пригнічується більшістю антимікробних засобів, у поєднанні з досить низькою токсичністю для теплокровних. Звертає увагу відсутність негативної дії на природну мікрофлору шкіри, більш слабкі цитологічні властивості, чим, наприклад, у хлоргексину [5,6]. Слід відзначити також широке практичне застосування бронополу для придання антисептичних властивостей таким препаратам, як зубні паста та еликсири, антацидні засоби типу "Альмагель" та послаблюючі, ін'єкційні розчини, очні краплі, контактні лінзи, косметичні та гігієнічні препарати дитячого асортименту.

Матеріали і методи дослідження

Вміст бронополу у стабілізованому ПВК контролювали за методикою: 0,050 г зразка розчиняли у мірній колбі на 250 см³, переносили по 20 см³ цього розчину у дві мірні колби на 50 см³, в одну доливали 20 см³ NaOH (0,5 моль/дм³) та обидві колби доводили до мітки дистильованою водою. Колбу з доданим розчином NaOH закривали пробкою та термостатували при температурі 60°C протягом 10 хв., після чого швидко охолоджували до кімнатної температури. Відбирали по 1 см³ охолодженого розчину у дві пробірки, для контролю відбирали по 1 см³ з колби, де не було розчину NaOH, додавали в кожну пробірку по 4 см³ реактиву на формальдегід. Пробірки термостатували при температурі 60°C протягом 5 хв., охолоджували до кімнатної температури та фотометрували у кюветах товщиною 1 см³ на КФК-2МП при 400 нм. Вміст бронополу у зразку знаходили за формулою:

$$X = \frac{m \cdot M \cdot 100}{m_0}$$

де X – маса бронополу у зразку, %; m_0 – точна наважка зразка у фотометричній пробі, г; M – молекулярна маса бронополу, г; m – кількість формальдегіду у пробі, моль.

Реактив на формальдегід готували так: 172 г ацетату амонію розчиняли у 0,6 дм³ води, додавали 2 г перегнаного ацетилацетону при хорошому перемішуванні до його повного розчинення. Потім, при необхідності, по краплях додавали оцтову кислоту до рН 6,0 і доводили об'єм розчину до 1 дм³.

Гранули ПВК, стабілізованого бронополом одержували у такий спосіб: у стаканчик, поміщений у термостат з температурою 40°C, наливали 20 см³ 4%-ного розчину бронополу, термостатували 5 хв., потім через медичний шприц прикапували 1 см³ 7 %-ного розчину ПВК. Утворені гранули витримували у розчині бронополу 20 хв., розчин зливали, гранули швидко промивали невеликою кількістю (4-5 см³) холодної води та сушили при кімнатній температурі на чашці Петрі до постійної маси.

Результати дослідження та їх аналіз

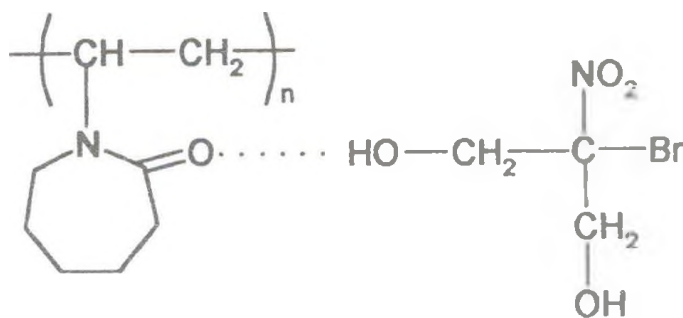
Термоосадження ПВК у розчинах бронополу призводить до утворення осаду полімеру, при цьому в залежності від концентрації використаного для стабілізації розчину бронополу утворюються гранули, які зберігають (концентрація бронополу 4%), чи не зберігають (концентрація бронополу 0,5-3%) форму до повного висихання.

У сухому зразку стабілізованого в 4% розчині бронополу ПВК, згідно з даними аналізу міститься 20% бронополу.

Вивчення впливу температури на стабілізацію ПВК розчином бронополу показало, що максимальне включення бронополу спостерігалось при 40°C, тобто в області температур термоосадження ПВК.

Вплив рН на стабілізацію ПВК розчином бронополу розглянули у Na-фосфатному буфері. Відзначено, що включення бронополу в ПВК було більшим при рН 5,0-6,0.

Методами ЯМР ^{13}C та ІЧ-спектроскопії нами було встановлено, що включення бронополу у ПВК відбувається за рахунок утворення водневих зв'язків між карбонільною групою капролактамних ланок та гідроксильними групами бронополу, а також в результаті витіснення води із структури полімеру та ущільненні, яке відбувається при цьому, так само, як і у випадку використання фенолів як стабілізаторів [4].



Припускаючи, що гранули ПВК можуть бути використані, як носії для включення різних біоматеріалів, у тому числі лікарських речовин, розглянули можливість направленої зміни структури, міцності та проникності гранул при доданні в процесі стабілізації ПВК бронополом високомолекулярних сполук (желатини та гідрофільних полімерів: ПЕО-400, ПЕГ-1700, 3000, 6000, 40000).

Враховували використання желатини у технології лікарських форм [7] завдяки її здібності стимулювати процеси регенеративного заживлення тканин, слабкої антигенності та токсичності, відсутності канцерогенних властивостей та високій сорбційній здатності. Як впливає з даних, наведених у таблиці 1, при проведенні стабілізації ПВК бронополом з добавкою желатини, ми спостерігали утворення стійких гранул сферичної форми (співвідношення желатина: ПВК 0,1:1:1 з розрахунку на суху масу), однак при співвідношенні желатина: ПВК 2:1 одержували дуже густий розчин, який не продавлювався через голку з утворенням краплі, тому у цьому випадку використовували ПВК з концентрацією 3,5%.

Таблиця 1

Включення бронополу в ПВК з добавкою желатини

Співвідношення желатина: ПВК (на суху масу)	Кількість бронополу в ПВК, %
0,1:1	28,8
1:1	27,5
2:1	31,4*

*3,5 % розчин ПВК.

У сучасній фармацевтичній практиці широко використовуються поліетиленоксиди, як мазеві і супозиторні основи. В літературі описані приклади знижен-

ня подразнюючої дії лікарських речовин, підвищення розчинності і пролонгації фармакологічного ефекту при включенні поліетиленоксидів до складу ліків [8,9]. Враховуючи ці позитивні властивості поліетиленоксидів, ми вважали за доцільне розглянути використання в якості добавок при стабілізації ПВК бронополом гідрофільні полімери різних молекулярних мас та вивчити їх вплив на фізико-механічні характеристики і властивості одержаних гранул. Для цього полімери у вибраних співвідношеннях розчиняли у 7%-ному розчині ПВК і одержані таким способом суміші полімер : ПВК прикапували через медичний шприц у 4%-ний розчин бронополу при 40°C. У таблиці 2 наведені властивості одержаних гранул, а у таблиці 3 – ступінь включення бронополу.

Стабілізація ПВК бронополом у присутності гідрофільних полімерів дає можливість одержувати тверді гранули правильної форми, причому розмір гранул залежить від молекулярної маси полімеру, у випадку використання ПЕГ-3000, ПЕГ-6000, ПЕГ-40000 були одержані гранули більшого діаметру, ніж при використанні ПЕО-400. Утворення твердих, міцних гранул правильної форми залежить також від співвідношенні ПВК : полімер. При використанні полімеру у співвідношенні більшому ніж 1:1 стабілізація відбувається з утворенням мілких, рихлих неправильної форми гранул.

Таблиця 2

Властивості гранул ПВК, стабілізованого бронополом у присутності гідрофільних полімерів

Співвідношення ПВК: гідрофільний полімер (на суху масу)	Вигляд і властивості гранул гранул, мм	Діаметр
	ПЕО-400	
0,25 : 1	Сферичної форми	1,60 ± 0,15
0,5 : 1	Неправильної форми, мілкі	—
0,7 : 1	Сферичної форми	2,10 ± 0,20
	ПЕО-1700	
0,25 : 1	Сферичної форми	2,25 ± 0,25
0,5 : 1	Неправильної форми, мілкі	—
	ПЕГ-3000	
0,5 : 1	Сферичної форми, крупні	3,15 ± 0,10
1 : 1	Сферичної форми, крупні	2,90 ± 0,20
2 : 1	Трохи сплюснені	3,00 ± 0,10
	ПЕГ-6000	
0,5 : 1	Сферичної форми	3,10 ± 0,10
1 : 1	Сферичної форми	2,50 ± 0,10
2 : 1	Сферичної форми, різної величини	2,20 ± 0,25
	ПЕГ-40000	
0,5 : 1	Сферичної форми, крупні,	3,00 ± 0,10
1 : 1	Сферичної форми	2,65 ± 0,15
2 : 1	Неправильної форми, мілкі	—

Стабілізація ПВК бронополом у присутності вивчених гідрофільних полімерів дозволяє одержувати стійкі гранули, які зберігають свою форму до повного висихання з 2%-ного розчину бронополу, чого не можна було досягти при стабілізації чистого ПВК, хоч ступінь включення бронополу при цьому нижчий, наприклад, присутність ПНО-400 у співвідношенні до ПВК 1:1 приводить до утворення гранул з 37,0% вмістом бронополу, у той час, як гранули, одержані із 2%-ного розчину бронополу, містить тільки 24,0%. Аналогічна закономірність спостерігається для усіх досліджених полімерів (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив гідрофільних полімерів на ступінь включення бронополу в ПВК

Співвідношення добавка: ПВК	Концентрація бронополу у розчині-стабілізаторі, % (на суху масу)	Ступінь включення бронополу*, %
ПЕО-400		
0,5 : 1	2	23,9
1 : 1	2	24,3
2 : 1	2	26,4
0,5 : 1	4	37,0
1 : 1	4	36,7
2 : 1	4	42,8
ПЕО-3000		
0,5 : 1	2	27,0
1 : 1	2	24,8
2 : 1	2	23,2
0,5 : 1	4	39,5
1 : 1	4	37,5
2 : 2	4	31,2
ПЕГ-6000		
0,5 : 1	4	31,6
1 : 1	4	37,1
2 : 1	4	32,4
ПЕГ-40000		
0,5 : 1	4	39,2
1 : 1	4	36,0
2 : 1	4	30,1

* – наведені середні значення із двох вимірів.

Вплив гідрофільних полімерів (таблиця 4) на формування структури гранул вивчали по швидкості виходу бронополу у водне середовище. Для цього 50 мг гранул поміщали у 50 см³ дистильованої води при температурі 40°C та визначили концентрацію бронополу у розчині у часі.

Таблиця 4

Швидкість виходу бронополу з гранул ПВК, одержаних у присутності гідрофільних полімерів.

Час, хв.	Кількість формальдегіду у пробі, мкг	Кількість формальдегіду у 1 см ³ розчину, мкг	Об'єм розчину, см ³	Кількість формальдегіду у розчині, мкг	Кількість бронополу у розчині, мг
Без полімеру					
5	2,37	11,85	50	592,5	3,95
10	3,70	18,50	49	906,5	6,04
20	5,73	28,65	46	1317,9	8,79
30	6,40	32,00	50	1599,9	10,67
40	7,95	39,75	45	1788,8	11,92
50	8,18	40,92	49	2005,3	13,37
70	9,44	47,20	48	2265,6	15,10
100	10,39	51,95	47	2441,6	16,28
ПЕО-400					
5	3,21	16,03	50	801,69	5,34
10	4,68	23,40	49	1146,43	7,64
20	6,23	31,15	46	1432,9	9,55
40	8,18	40,90	45	1840,5	12,27
60	10,11	50,57	44	2225,0	14,83
ПЕГ-3000					
5	5,45	27,24	50	1362,0	9,08
15	9,23	46,14	49	2260,7	15,07
25	10,45	52,26	48	2508,5	16,72
40	11,49	57,34	47	2695,2	17,97
55	11,88	59,40	46	2732,4	18,22
75	12,15	60,73	45	2732,9	18,22
100	12,35	61,77	44	2718,1	18,12
ПЕГ-6000					
5	4,40	22,00	50	1100,0	7,34
15	8,92	44,60	49	2185,4	14,56
25	10,68	53,40	48	2563,2	17,1
40	11,55	57,85	46	2656,5	17,71
55	11,63	58,15	45	2616,75	17,44
75	12,22	61,10	44	2688,4	17,93
ПЕГ-40000					
5	7,92	39,60	50	1980,0	13,2
15	10,26	51,30	49	2513,7	16,7
25	11,45	57,25	48	2748,0	18,32
40	12,14	60,70	46	2792,2	18,61
55	12,40	62,00	45	2790,0	18,60
75	12,71	63,55	44	2796,2	18,64

У випадку гранул з добавкою гідрофільних полімерів швидкість виходу бронополу залежить від молекулярної маси полімеру (рис.). Більш швидкий вихід бронополу у розчин спостерігається у випадку гранул, отриманих у присутності полімерів з більшою молекулярною масою (ПЕГ-3000, ПЕГ-6000,

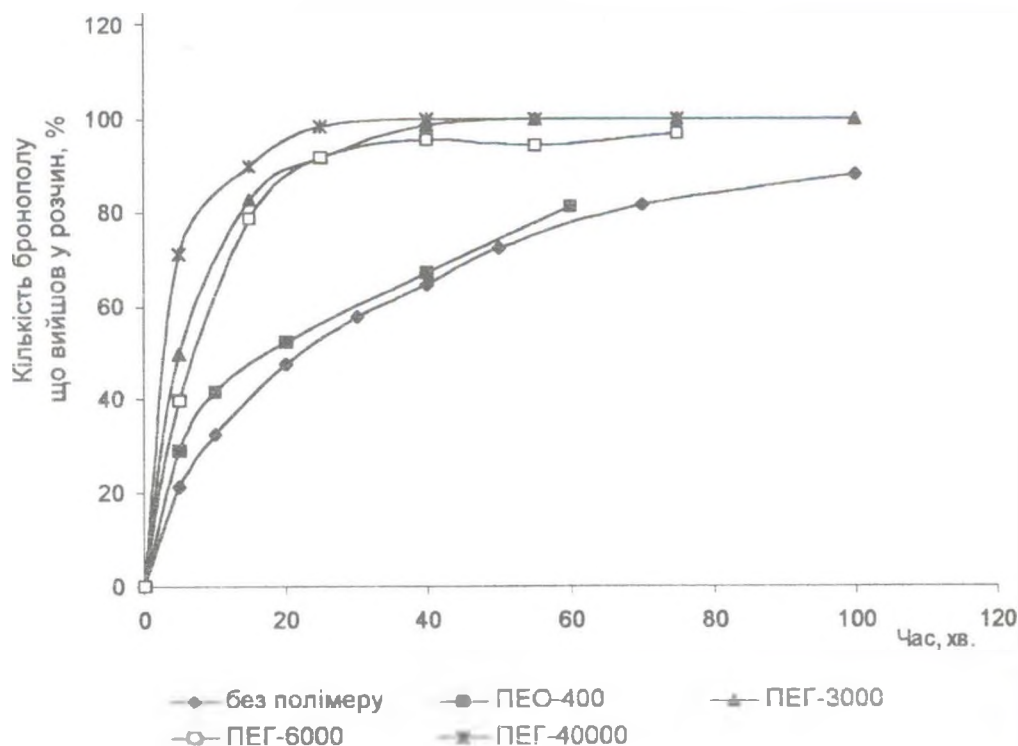


Рис. Вплив гідрофільних полімерів на вихід бронополу із гранул ПВК. Концентрація ПВК 7,0%, співвідношення ПВК: полімер 1:1

ПЕГ-40000), що, очевидно, можна пояснити утворенням менш щільної поверхневої оболонки.

Для дослідження механічних властивостей одержаних препаратів гранули поміщали у стаканчик з дистильованою водою, інтенсивно перемішували на магнітній мішалці при 40°C. Критерієм, який характеризує міцність гранул було вибрано час початку деформації гранул та їх повного руйнування.

Як видно з результатів, наведених у таблиці 5, використання гідрофільних полімерів в якості добавок до ПВК призводить до одержання більш еластичних гранул. Якщо гранули, одержані стабілізацією чистого розчину ПВК, повністю руйнувались через 2 години, то у випадку гранул, одержаних з гідрофільними полімерами навіть через 3 години ми спостерігали лише часткову їх деформацію,

Таблица 5

Механичні властивості гранул ПВК з добавкою гідрофільних полімерів

Склад гранул	Час початку деформації гранул, хв.	Час руйнування гранул, год.
Без полімеру	30	2,5
ПЭО-400	10	3*
ПЭГ-3000	10	3*
ПЭГ-6000	10	3*
ПЭГ-40000	10	3**

* – Гранули злиплись, повного руйнування не спостерігалось.

** – Гранули не злиплись, повного руйнування не спостерігалось.

Література

1. Компанцева Е. В., Гаврилин М. В., Монастырская И. И. Изучение взаимодействия дипразина с некоторыми полимерами в водных растворах и твердом состоянии // Химико-фармацевтический журнал. — 2000. — Т. 34, № 7. — С. 52 – 54.
2. Давиденко Т. И. Имобилизация ферментных препаратов // Украинский химический журнал. — 1999. — Т. 65, № 9. — С. 48 – 55.
3. Кузькина И. Ф., Пашикин И. И., Марквичева Е. А. и др. Гидрогелевые гранулы из поли-N-винилкапролактама: получение, свойства и применение // Химико-фармацевтический журнал. — 1996. — Т. 30, № 1. — С. 39 – 41.
4. Давиденко Т. И., Шапиро Ю. Е., Кравченко И. А. и др. Соединения включения фенолов и поли-N-винилкапролактама // Известия РАН, серия химическая. — 1996. — № 9. — С. 2251 – 2255.
5. Легин Г. Я. 2-Бром-2-нитропропандиол-1,3 (бронопол) и его производные: синтез, свойства, применение (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. — 1996. — Т. 30, № 4. — С. 54 – 63.
6. Давиденко Т. И., Мельник Е. А., Рудник Т. В., Звягинцева Н. П. Изучение стабильности и антибактериальных свойств 2-бром-2-нитропропандиола-1,3 // Фізіологічно активні речовини. — 2001. — Т. 32, № 2. — С. 61 – 64.
7. Технология лекарственных форм. — М.: Медицина, — 1982. — Т. 1. — 495 с.
8. Гаврилин М. В., Компанцева Е. В., Ушакова Л. С. и др. Изучение возможности использования геля полиэтиленоксида в фармации // Фармация. — 1998. — № 2. — С. 20 – 22.

Т. И. Давиденко, Г. И. Бондаренко

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,

кафедра фармацевтической химии,

Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины,

отдел физико-химических основ биотехнологии

ВКЛЮЧЕНИЕ 2-БРОМ-2-НИТРОПРОПАНДИОЛА-1,3 В ПОЛИ-N-ВИНИЛКАПРОЛАКТАМ

Резюме

Показана возможность формирования гидрогелевых гранул из поли-N-винилкапролактама (ПВК) с использованием 4 % водного раствора 2-бром-2-нитропропандиола-1,3 (бронопола) при 40°C. Методами ЯМР ¹³C и ИК-спектроскопии установлено, что включение бронопола в ПВК происходит за счет образования водородных связей между карбонильной группой капролактамных звеньев и гидроксильными группами бронопола. Добавки полиэтиленгликолей

позволяют изменить размер гранул, выход из них бронопола и снизить концентрацию стабилизирующего раствора бронопола с 4 % до 2 %.

Ключевые слова: поли-N-винилкапролактам, стабилизация, бронопол, полиэтиленгликоли, желатин

T. I. Davidenko, G. I. Bondarenko

The I. I. Mechnikov's Odessa National University,

Chair of pharmaceutical chemistry;

A. V. Bogatsky's Physico-Chemical Institute, NAS of Ukraine,

Department of physico-chemical basis of biotechnology.

THE ENTRAPMENT OF 2-BROMO-2-NITROPROPANE DIOL-1,3 IN POLY-(N-VINYL)-CAPROLACTAM

Summary

The possibility of hydrogel beads formation of poly-(N-vinyl)-caprolactam (PVC) with a usage of 4% aqueous solution of 2-bromo-2-nitropropane diol-1,3 (bronopol) at 40°C is shown. By the NMR ¹³C and IR-spectroscopy methods it was stated, that the entrapment of bronopol in PVC is due to the formation of hydrogen bonds between the carbonyl group of caprolactam chains and the hydrogen groups of bronopol. The additions of polyethylene glycols allows to change the size of beads, the yield of bronopol from them and to diminish the concentration of stabilizing bronopol solution from 4% to 2%.

Keywords: poly-(N-vinyl)-caprolactam, stabilization, bronopol, polyethylene glycol, gelatin.