

СОСТАВ И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НАЗАЛЬНОГО СПРЕЯ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ

Е.П. Безуглая¹, канд. фарм. наук, Э.А. Бариев^{3*}, Н.А. Ляпунов¹, докт. фарм. наук, профессор, О.В. Тимченко², А.И. Бардаков³, канд. фарм. наук

¹Государственное научное учреждение «Научно-технологический комплекс «Институт монокристаллов» НАН Украины»; Харьков, Украина

²Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции; Харьков, Украина

³Московское производственное химико-фармацевтическое объединение им. Н.А. Семашко; 115172, Москва, ул. Б. Каменщики, д. 9

*E-mail: bariev@mhfp.ru

Представлены результаты исследования физико-химических и биофармацевтических свойств налоксона гидрохлорида, на основании которых разработан состав спрея назального с налоксоном. Полученные данные позволяют рассматривать интраназальное введение налоксона гидрохлорида в форме спрея как альтернативу парентеральному введению раствора для инъекций.

Ключевые слова: налоксона гидрохлорид, спрей назальный, состав, высвобождение, биодоступность, фармакокинетика.

При разработке новых лекарственных препаратов следует выбрать концентрацию и дозу действующего вещества. Новым считается препарат, содержащий либо новое вещество, либо известное действующее вещество, но в другой лекарственной форме и при ином пути введения [1]. При выборе состава вспомогательных веществ необходимо исследовать их влияние на функциональные свойства препарата, например биодоступность. Изучение влияния фармацевтических факторов на проницаемость и биодоступность относится к биофармацевтическим исследованиям, которые проводят в опытах *in vitro* и *in vivo* [2].

Для системного действия перспективным считают интраназальный (и/н) путь введения, актуальный для антагониста опиоидных рецепторов налоксона, применяемого для оказания неотложной помощи при интоксикациях наркотиками [3]. В Российской Федерации зарегистрирован только препарат «Налоксон раствор для инъекций 0,4 мг/мл», который применяют для внутривенного (в/в) и внутримышечного (в/м) введения [4].

Цель работы — разработка состава и исследование биофармацевтических свойств назального спрея с налоксоном, обеспечивающих возможность его применения в качестве альтернативы раствору для инъекций.

Экспериментальная часть

Объектами исследований были препараты «Налоксон раствор для инъекций 0,4 мг/мл» и «Налоксон спрей назальный», которые содержат налоксона гидрохлорид [4, 5] (далее — налоксон) и вспомогательные вещества: полоксамер 407, полиэтиленгликоль 400 (ПЭГ 400), пропиленгликоль (ПГ), воду очищенную [5, 6]. Исследовали также различные растворы, в которых варьировал состав вспомогательных веществ.

Осмоляльность растворов определяли по снижению температуры их замерзания [5] при помощи миллиосмометра-криостата термоэлектрического МТ-5. Поверхностное натяжение на границе жидкость/воздух (σ) измеряли методом наибольшего давления пузырька на приборе П.А. Ребиндера, а межфазное натяжение (γ) на границе водных растворов и вазелинового масла — с помощью сталагмометра по массе и объему капли при температуре $(25 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. Исходя из полученных данных, рассчитывали работу когезии ($W_k = 2 \cdot \sigma_1$), работу адгезии ($W_a = \sigma_1 + \sigma_2 - \tau$), краевой угол смачивания (θ) по уравнению Юнга ($\cos \theta = (\sigma_2 - \gamma) : \sigma_1$) и коэффициенты растекания по уравнению $f = W_a - W_k$, где σ_1 и σ_2 — поверхностное натяжение на границе водного раствора (1) и масла (2).

Высвобождение налоксона и ПГ определяли методом диализа через мембрану из целлофана при температуре $(37 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ [7]. Масса препарата в камере составляла 3,0 г; высвобождение проходило в камеру, содержащую 60 мл воды очищенной. Содержание налоксона в диализате устанавливали методом ВЭЖХ [5] на жидкостном хроматографе со спектрофотометрическим детектором в следующих условиях: колонка размером $100 \times 4,0$ мм, заполненная сорбентом «Reposil-PurBasic C18» с размером частиц 3 мкм; под-

вижная фаза – фосфатный буферный раствор рН 2,0 – ацетонитрил для хроматографии (82:18); скорость потока подвижной фазы 0,9 мл/мин; температура колонки – 40°C; длина волны детектирования – 281 нм.

Содержание ПГ в диализате определяли методом газовой хроматографии [5] с использованием внутреннего стандарта 1,4-бутандиола на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором в следующих условиях: колонка капиллярная кварцевая размером 30 м × 0,53 мм с неподвижной фазой 5% фенил – 95% метилполисилоксан с толщиной слоя 5,0 мкм; температура колонки – 150°C; температура испарителя и детектора – 250°C; линейная скорость газа-носителя азота – 40 см/с; коэффициент деления потока газа носителя – 1:20.

Кинетику абсорбции воды растворами определяли в опытах *in vitro* методом диализа через целлофановую мембрану при температуре 37±0,1°C путем взвешивания камеры с раствором. Исходно масса раствора в камере составляла 3,0 г. Распределение частиц по размерам в аэрозольной струе устанавливали методом лазерной дифракции [5] с помощью лазерного дифрактометра «Spraytec laser diffraction system».

Определение биодоступности налоксона проводили при различных способах введения препарата (и/н, в/в и в/м) кроликам породы шиншилла со средней массой тела 3,9±0,46 (3,0÷4,9) кг. Показатели фармакокинетики определяли по динамике концентрации налоксона в плазме крови при однократном и/н введении кроликам препарата в дозах 0,6, 1,2 и 1,8 мг/кг (по налоксону), а также при однократном введении раствора для инъекций в дозе 0,6 мг/кг в/в струйно в краевую вену уха и в/м в бедренную мышцу.

Кровь для анализа отбирали из краевой вены уха кролика в предварительно гепаринизированные пробирки по следующей схеме: до введения препаратов и через 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 и 120 мин после их введения. Кровь центрифугировали при скорости 3000 об/мин в течение 5 мин. Полученную плазму хранили при температуре -22°C. Концентрацию налоксона в плазме крови определяли по разработанной нами методике, включающей предварительную твердофазную экстракцию налоксона из плазмы, концентрирование пробы под вакуумом и последующее количественное определение налоксона методом ВЭЖХ [8].

При и/н введении налоксон должен быстро и достаточно полно всасываться в системный кровоток. Для этого препарат должен быть мукоадгезивным [9], хорошо смачивать слизистую оболочку, растекаться по ней (для всасывания с большой поверхности) и не вытекать из носа, что требует также ограничения дозы по объему. Чтобы обеспечить пассивную диффузию, препарат должен содержать усилители проникновения и быть гиперосмоляльным, не оказывая в то же время пересушивающего действия на слизистую оболочку. В аэрозольной струе должно быть минимальное содержание частиц с размером менее 10 мкм [10], чтобы при вдохе они не попадали в легкие, а оседали в полости носа. Для придания препарату адгезивных свойств в его состав включили поверхностно-активное вещество (ПАВ) полоксамер 407 [5,6].

Для воды и препарата, не содержащего ПАВ, краевой угол смачивания гидрофобной поверхности превышал 90°, работа когезии несколько раз превышала адгезию, что препятствовало растеканию (табл. 1). В присутствии 1% полоксамера 407 краевой угол смачивания уменьшался примерно до 70°, значения работы когезии и адгезии становились сопоставимыми, вследствие чего значительно увеличивался коэффициент растекания. Таким образом, поверхностно-активные свойства препарата определяются именно полоксамером 407, который обеспечивает мукоадгезию препарата.

Гиперосмоляльность препарата обеспечивают гидрофильные неводные растворители ПГ и ПЭГ 400. С увеличением их суммарной концентрации (при массовом соотношении 1:1) осмоляльность препарата линейно увеличивалась и составляла при 2,5% – 126 мосмоль/кг, а при 5% – 254 мосмоль/кг. При суммарном содержании ПГ и ПЭГ 400 5,7% осмоляльность препарата находилась на уровне изотонического раствора натрия хлорида (290 мосмоль/кг). При содержании гидрофильных растворителей 7,5% температура замерзания становилась ниже -10°C, измерение при помощи миллиосмометра-криостата становилось невозможным и об осмоляльности можно было судить только на основании экстраполяции. При суммарном содержании ПГ и ПЭГ 400 (1:1) 20% величина осмоляльности препарата, полученная методом экстраполяции, составляла 1016 мосмоль/кг.

Таблица 1

ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ВОДЫ И ИСПЫТУЕМЫХ РАСТВОРОВ

Раствор	σ	γ	W _k	W _a	f	cos θ	θ, °
	мДж/м ² (мН/м)						
Вода	71,96	64,66	143,92	41,19	-102,73	-0,42760	115,32
Препарат без ПАВ	51,23	36,44	102,46	48,68	-53,78	-0,04978	92,85
1 % водный раствор полоксамера 407	40,21	21,35	80,42	52,75	-27,67	0,31186	71,83
Препарат, содержащий 1 % полоксамера 407	38,91	21,06	77,82	51,74	-26,08	0,32974	70,75

Изучение в опытах *in vitro* процесса высвобождения налоксона в зависимости от состава гидрофильных растворителей (табл. 2) показало, что наименьшие скорость и степень высвобождения наблюдаются при использовании ПЭГ 400 в концентрации 20%. Частичная замена ПЭГ 400 на ПГ приводила к резкому увеличению скорости и степени высвобождения налоксона, которые были максимальны при массовом соотношении ПЭГ 400 и ПГ 1:1. При этом степень его высвобождения в течение 3 ч достигала 67,66%. При дальнейшем увеличении доли ПГ и скорость, и степень высвобождения налоксона резко снижались.

ПЭГ 400 не проникает через целлофановую мембрану и в диализате не обнаруживается. ПГ быстро диффундирует через мембрану в камеру с водой; через 0,25 ч – 13,54%, 0,5 ч – 23,78%, 1,0 ч – 33,25%, 2,0 ч – 51,62%, 3,0 ч – 70,65%, 4,0 ч – 72,15%. После 3 ч высвобождение ПГ резко замедляется. По результатам исследований ПГ можно отнести к усилителям проникновения. Диффузионные процессы, возникающие вследствие различий в осмоляльности, обеспечивают высвобождение растворенных веществ в камеру с водой и диффузию воды в камеру с препаратом. Масса камеры с препаратом возрастает через 0,25 ч на 25,9%, 0,5 ч – 39,2%, 1,0 ч – 51,3%, 2,0 ч – 68,8%, 3,0 ч – 78,9%, 4,0 ч – 82,2%, т.е. через 3 ч препарат абсорбирует около 80% воды, что не может приводить к обезвоживанию слизистой оболочки при массе дозы ~56 мг.

Распределение частиц спрея назального с налоксоном по размерам в аэрозольной струе от дозы к дозе оставалось на одном уровне (табл. 3). Средний объемный диаметр частиц был в несколько раз больше 10 мкм, а содержание фракции частиц с диаметром менее 10 мкм минимально и не превышало 1,4%. Распределение частиц по размерам оптимально для осаждения аэрозольной струи в полости носа, что важно для точного дозирования препарата. Насадка-распылитель типа V04.1450 выполняет свое функциональное назначение.

На следующем этапе были проведены фармакокинетические исследования препарата. При в/в введении раствора для инъекций концентрация налоксона в плазме крови быстро снижалась, и через 120 мин в

плазме обнаруживались только ее следовые количества (см. рисунок). Снижение концентрации налоксона носит двухфазный характер. Налоксон быстро выводится из организма: $Cl_T = 110,61$ мл/мин • кг, $K_{el} = 0,0218$ мин⁻¹ (табл. 4).

При в/м введении концентрация налоксона нарастает в течение первых 5 мин с дальнейшим двухфазным снижением концентрации: к 60 мин уровень налоксона снижается в 2 раза (до 39,66 нг/мл), затем наблюдается более продолжительная вторая фаза элиминации (см. рисунок, табл. 4). Фармакокинетические константы, характеризующие скорость выведения налоксона, при в/м введении значительно отличались от соответствующих параметров при в/в введении (см. табл. 4).

При и/н введении пик концентрации налоксона в плазме регистрировался через 5–10 мин и составлял 35,06, 74,97 и 88,34 нг/мл соответственно для доз 0,6, 1,2 и 1,8 мг/кг. Через 30 мин концентрация налоксона снижалась почти в 2 раза, а через 120 мин в плазме оставалось 5–7% налоксона. При введении препарата в дозах 1,2 и 1,8 мг/кг концентрации налоксона в плазме сопоставимы с уровнем его содержания при в/м введении, а после достижения максимальной концентрации – с его уровнем в плазме при в/в введении (см. рисунок).

Таблица 2

ВЫСВОБОЖДЕНИЕ НАЛОКСОНА ЧЕРЕЗ ПОЛУПРОНИЦАЕМУЮ МЕМБРАНУ ПРИ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ В ПРЕПАРАТЕ ГИДРОФИЛЬНЫХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

Концентрация, %		Высвобождение налоксона гидрохлорида (%) через время:				
ПЭГ 400	ПГ	0,25 ч	0,5 ч	1,0 ч	2,0 ч	3,0 ч
20	0	0,92	1,85	3,35	5,57	6,24
15	5	13,96	21,91	37,43	58,06	62,60
10	10	17,71	33,66	48,48	61,12	67,66
5	15	3,32	19,25	23,39	34,30	38,47

Таблица 3

ПАРАМЕТРЫ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТИЦ ПО РАЗМЕРАМ В АЭРОЗОЛЬНОЙ СТРУЕ СПРЕЯ НАЗАЛЬНОГО С НАЛОКСОНОМ

Номер опыта	D _{max} (мкм) во фракции:			Средний объемный диаметр, мкм	% об. частиц с D < 10 мкм
	D _v (10)	D _v (50)	D _v (90)		
1	20,31	49,81	112,6	59,24	1,349
2	20,19	47,92	106,7	56,68	1,354
3	20,18	47,51	105,5	56,15	1,349
Среднее	20,23	48,41	108,27	57,36	1,351

Примечание. D_v(10) – максимальный диаметр частиц во фракции с наименьшим диаметром частиц, составляющей 10% от общего числа частиц; D_v(50) – наибольший диаметр частиц во фракции, составляющей 50 % от общего числа частиц; D_v(90) – наибольший диаметр частиц во фракции, составляющей 90% от общего числа частиц.

Параметры фармакокинетики свидетельствуют о быстром всасывании налоксона в системный кровоток при в/м и и/н введении с последующей достаточно быстрой элиминацией из плазмы крови животных (см. табл. 4). Скорость абсорбции налоксона (C_{\max}/AUC_{0-t}) при и/н введении выше, чем при в/м введении примерно в 1,5 раза. Абсолютная биодоступность налоксона имеет тенденцию к снижению при введении максимальной из испытанных доз и составляет соответственно 34,79; 31,22 и 22,16% (в пересчете на дозу 0,6 мг/кг), или 34,79; 62,43 и 66,47% с учетом введенной дозы.

На основании установленной биодоступности оптимальная разовая доза налоксона для и/н введе-

ния, эквивалентная его разовой инъекционной терапевтической дозе (0,4 мг), была рассчитана следующим образом:

$$D_{\text{наз}} \frac{D_{\text{ин}} \cdot 100}{f} = \frac{0,4 \cdot 100}{34,79} \approx 1,2 \text{ мг,}$$

где $D_{\text{наз}}$ – доза налоксона при и/н введении, мг; $D_{\text{ин}}$ – доза налоксона при инъекционном введении, мг; f – абсолютная биодоступность налоксона при и/н введении, %. Таким образом, разовая доза налоксона при и/н введении должна составлять 1,2 мг. С учетом объема дозы 50 мкл и вводимого количества доз (2 дозы: по 1-й дозе в каждый носовой ход) оптимальное содержание налоксона в 1 дозе должно составлять 0,6 мг/50 мкл, а его концентрация в растворе – 1,2%.

Выводы

1. Разработан состав спрея назального с налоксоном, обеспечивающий способность к смачиванию, растеканию и мукоадгезии, гиперосмоляльность, быстрое и достаточно полное высвобождение усилителя проникновения пропиленгликоля и налоксона, что способствует его быстрому и полному всасыванию в системный кровоток со всей поверхности слизистой оболочки полости носа.

2. Препарат умеренно абсорбирует воду и при маленьком объеме дозы не может приводить к обезвоживанию слизистой оболочки полости носа.

3. Насадка-распылитель обеспечивает оптимальное распределение частиц по размерам, способствующее осаждению аэрозольной струи в полости носа.

4. В эксперименте на кроликах показано, что интраназальное введение препарата обеспечивает быстрое всасывание налоксона с достижением терапевтических концентраций в плазме крови и может быть альтернативой инъекционному пути введения. По результатам фармакокинетических исследований препарата выбрана концентрация налоксона и его доза для интраназального введения.

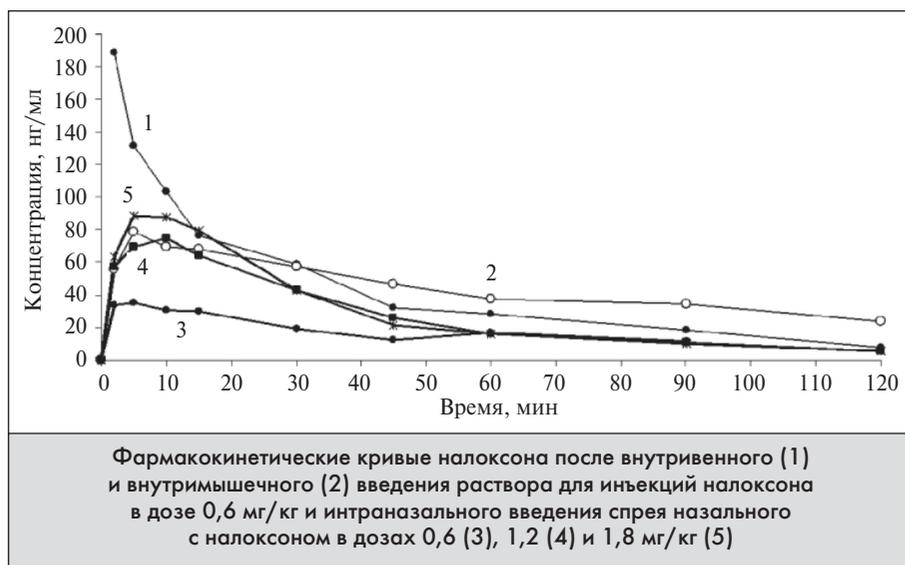


Таблица 4

ОСНОВНЫЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ НАЛОКСОНА ПРИ ВНУТРИВЕННОМ, ВНУТРИМЫШЕЧНОМ И ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ КРОЛИКАМ

Фармакокинетические константы	Путь введения, дозы, мг/кг				
	в/в, 0,6	в/м, 0,6	и/н, 0,6	и/н, 1,2	и/н, 1,8
C_{\max} (C_0), нг/мл	240,20	78,79	35,06	74,97	88,34
C_{\max}/D	—	131,32	58,43	62,48	49,07
T_{\max} , мин	—	5	5	10	5
K_{el} , мин ⁻¹	0,0218	0,0098	0,0106	0,0240	0,0178
$T_{1/2}$, мин	31,83	70,91	65,35	28,91	39,02
MRT, мин	32,84	48,83	91,82	34,56	32,04
Cl_T , мл/мин.кг	110,61	77,84	208,70	346,86	478,39
AUC_{0-t} , нг мин/мл	5184,73	5273,64	1803,65	3236,84	3446,29
$AUC_{0-\infty}$, нг мин/мл	5541,99	7708,38	2508,51	3459,58	3762,25
C_{\max}/AUC_{0-t} , мин ⁻¹	—	0,0149	0,0194	0,0232	0,0256
f_D , %	100	101,71	34,79	31,22	22,16
f , %	100	101,71	34,79	62,43	66,47

Примечание. Число животных в группе n=5.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union. The Notice to Applicants. Volume 2C. Regulatory Guidelines. Guideline on the Categorisation of Extension Applications (EA) versus Variations Applications (V). European Commission. Brussels, F2/AW D(2002), Final. Revision 3.

2. EMEA/CHMP/167068/2004. ICH. Part I. ICH Topic Q8 (R2). Step 5: Note for Guidance on Pharmaceutical Development, 2009.

3. Robertson T., Hendey G., Stroh G., Shalit M. Intranasal Naloxone is a Viable Alternative to Intravenous Naloxone for Prehospital Narcotic Overdose. *Prehospital Emergency Care.*, 2009; 13. (4): 512–515.

4. Государственный реестр лекарственных средств России (Электронный ресурс). Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/> (State Register of medicinal products in Russia (electronic resource)). Access: <http://grls.rosminzdrav.ru/> (in Russian)).

5. European Pharmacopoeia. 8th Ed. European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2013; 3655.

6. Rowe R.C., Sheskey P.J., Owen S.C. (Eds.). *Pharmaceutical Excipients*. Pharmaceutical Press, London; Electronic version. 2006.

7. Lugano A.S. Etude du transport de principes actifs incorporés dans des émulsions liquides de type huile dans eau: These doct. pharm. sci. – 1793. – Zurich, 1977: 117.

8. Тимченко О.В., Безуглая Е.П., Орлова И.Н., Бариев Э.А. Фармакокинетическое обоснование концентрации и дозы налоксона гидрохлорида при фармацевтической разработке препарата «Налоксон спрей назальный». *Фармаком*, 2013; 2: 30–37 (Timchenko O.V., Bezuglaya E.P., Orlova I.N., Bariev E.A. Pharmacokinetic study of concentration and dose of naloxone hydrochloride during pharmaceutical development of medicinal product «Naloxon enzal spray». *Farmacom*, 2013; 2: 30–37 (in Russian)).

9. Boddupalli B.M., Zulkar N.K. Mohammed, Ravinder N.A., Banji D. Mucoadhesive drug delivery system: an overview. *J. of Advanced Pharm. Technology & Research.*, 2010; 1. (4): 381–387.

10. EMEA/CHMP/QWP/49313/2006 corr. Guideline on the Pharmaceutical Quality of Inhalation and Nasal Products. London, 21 June 2006.

Поступила 14 мая 2015 г.

COMPOSITION AND BIOPHARMACEUTICAL PROPERTIES OF NASAL SPRAY WITH SYSTEMIC ACTION

E.P. Bezuglaya¹, PhD; E.A. Bariev²; Professor N.A. Lyapunov¹, PhD; O.V. Timchenko²; A.I. Bardakov³, PhD

¹*State Scientific Institution «Institute for Single Crystals», National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine*

²*State Research Center of Medicines and Medical Products, Kharkov, Ukraine*

³*N.A. Semasko Moscow Production Chemopharmaceutical Association; 9, B. Kamenshchiki St., Moscow 115172*

SUMMARY

The composition of Naloxone nasal spray was designed using the results of an investigation of its physicochemical and biopharmaceutical properties. The agent's properties (wettability, spreadability, hyperosmolarity, and a penetration intensifier, rapid and complete release of naloxone hydrochloride in moderate water absorption, and no respirable particle fraction in aerosol spray) are favorable to the accurate dosing and rapid absorption of intranasal naloxone hydrochloride into the rabbit systemic blood flow with the absolute bioavailability of about 30%. The results of the investigations make it possible to consider intranasal naloxone chloride spray as an alternative to the parenteral administration of solution for injection.

Key words: naloxone hydrochloride, nasal spray, composition, release, bioavailability, pharmacokinetics.