

СВОЙСТВА ФУРАЦИЛИНА, ИНКАПСУЛИРОВАННОГО В ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ПОЛИМЕРЫ

© 2017 Е. В. Грехнёва¹, Т. Н. Кудрявцева², Л. Г. Климова³

¹ канд. хим. наук, доцент кафедры химии
e-mail: grekhnyovaev.@yandex.ru

² канд. хим. наук, руководитель НИЛ органического синтеза
e-mail: labOS.kgu@mail.ru

Курский государственный университет

³ канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии

Курский государственный медицинский университет

Осуществлено микрокапсулирование фурацилина в водорастворимые полимеры. Выполнено исследование свойств полученных продуктов методами УФ- и ИК-спектроскопии, электронной микроскопии. Проведено сравнение антимикробной активности нативного фурацилина с инкапсулированным. Определено распределение частиц по размеру методом анализа их траекторий.

Ключевые слова: фурацилин, микрокапсулирование, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, альгинат натрия, гуаровая камедь, антимикробная активность, дисперсность.

В настоящее время в фармакологии постоянно ведется разработка методов адресной доставки биологически активных веществ и лекарственных соединений, а также предлагаются новые пути решения проблемы, связанной с повышением биодоступности некоторых лекарственных препаратов.

Одним из способов повышения биодоступности является микрокапсулирование. Микрокапсулы позволяют переносить препарат, не изменяя его химических свойств и эффективности. Микрокапсула обладает постоянным составом и свойствами, что позволяет включать в нее любой фармацевтический препарат, не проводя дополнительных дорогостоящих исследований, в частности доклинических или клинических испытаний [Постраш, Хишова 2010].

Как показал анализ литературных данных, а также проводимые ранее исследования, продукты микрокапсулирования обладают повышенной биологической активностью по сравнению с исходным субстратом и могут помочь решить многие проблемы, связанные с «адресной» доставкой лекарственного препарата в определенные органы или системы, а также с контролируемым высвобождением лекарственного вещества и пролонгированностью действия препарата [Степанова и соавт. 2014; Grekhnyova и соавт. 2014].

В данной работе проводили микрокапсулирование фурацилина в водорастворимые полимеры природного (альгинат натрия и гуаровая камедь) и синтетического (поливиниловый спирт и поливинилпирролидон) происхождения. Фурацилин (нитрофуралин) относится к антибактериальным средствам, действующим на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы – стафилококки, стрептококки, дизентерийную и кишечную палочки, сальмонеллу, возбудителей газовой гангрены. Все нитрофурановые лекарственные средства очень мало или вообще

нерастворимы в воде (0,02%), чувствительны к свету [Грехнева, Домашева 2013]. Поэтому инкапсулирование фурацилина в водорастворимые полимеры позволит не только повысить его способность растворяться в воде, но и предотвратить нежелательное влияние факторов окружающей среды.

Выбор полимеров обусловлен широким использованием поливинилового спирта (ПВС) и поливинилпирролидона (ПВП) в фармацевтической промышленности. В медицине ПВС применяется в качестве плазмозаменителя при переливании крови, очищенный от примесей низкомолекулярный поливиниловый спирт используют для изготовления препарата «Йодиол», в растворах для глазных капель и контактных линз в качестве дубриканта. Некоторые марки низкомолекулярного поливинилового спирта используют в пищевой промышленности (пищевая добавка E1203) как глазирующий агент и компонент, обеспечивающий связывание воды. При микрокапсулировании ПВС применяется как в качестве ПАВ, так и в качестве полимера оболочки. ПВП также очень широко применяется в медицине. В зависимости от молекулярного веса поливинилпирролидон может быть использован для связывания токсических веществ, сравнительно быстро выводящихся из организма (молекулярный вес 10000–15000), как кровезаменитель (молекулярный вес 30000–40000), для длительного связывания в организме некоторых химических веществ в целях пролонгации действия новокаина, инсулина, некоторых антибиотиков (пенициллин, стрептомицин, тетрациклины), салицилатов, барбитуратов, ряда гормонов и некоторых других лекарств. Для этих целей используется ПВП с высоким молекулярным весом (50000–60000). Так, совместное использование с этим полимером новокаина позволяет продлить его обезболивающее действие от нескольких часов до трех-четырех или даже до девяти дней [Сидельковская 1970; Маркович 2011; Валуев 2003].

Альгинат натрия и гуаровая камедь также широко используются, в частности в медицине (в качестве антацида), пищевой промышленности (загустители) и в косметологии. Применение альгината натрия основано на его способности образовывать гели, желеобразные вещества, и он также применяется как оболочка для микрокапсулирования [Dai 2006; Grekhnyova и соавт. 2014]. Гуаровая камедь (или гуаран), помимо использования в пищевой промышленности в качестве стабилизатора, загустителя и структуратора, обладает биологическим действием как физиологическое слабительное, нормализующее кишечную проницаемость и кишечную микрофлору, как детоксифицирующее и снижающее уровень холестерина средство, а также как средство, тормозящее развитие атеросклероза и ожирения [Валуев Л.И. и соавт. 2003; Грехнева, Кудрявцева 2016].

Для получения продукта с заданным набором свойств подбирались оптимальный состав микрокапсул и условия проведения процесса. Микрокапсулирование осуществлялось физико-химическим методом, который состоит в переосаждении полимера на поверхности капсулируемого вещества путем замены растворителя [Постраш, Хишова 2010]. Этот метод включает в себя следующие стадии: растворение фурацилина в подходящем растворителе (например, диметилформамиде), переосаждение вещества из раствора и осаждение полимера на поверхности вещества в результате постепенного прибавления осадителя.

Методика капсулирования состоит в следующем: к 2% (в случае капсулирования в ПВП или ПВС) или 1% (в случае капсулирования в альгинат натрия или гуаровую камедь) водному раствору полимера, содержащего 0,5–1,0% от массы фурацилина ПАВ и 0,1% NH_3 , по каплям добавляли раствор фурацилина так, чтобы соотношение вещество : полимер составляло 1:1 или 1:2. В качестве осадителя ПВП и ПВС использовали ацетон, альгината натрия – этанол, гуаровой камеди – ацетон или этанол. Образовавшиеся микрокапсулы отфильтровывали на фильтре Шотта (ВФ-1-40 кл.

пор.16), промывали ацетоном и высушивали в эксикаторе над влагопоглощающим агентом [Грехнева, Кудрявцева 2016].

Количественный состав получаемых микрокапсул, а именно процентное содержание фурацилина в продукте устанавливалось методом УФ-спектроскопии, на спектрофотометре Shimadzu UV 1800. Для установления подлинности и количественного определения фурацилина используют УФ-спектры его водных растворов. Максимум поглощения такого раствора находится при 367 нм. Количественный анализ проводился по результатам обработки спектров при указанной длине волны. Количественное определение осуществляли методом градуировочного графика. По калибровочной кривой определяли концентрацию вещества в капсулах.

Строение выделенных микрокапсул подтверждалось методом инфракрасной спектроскопии с использованием ИК-Фурье-спектрометра «ФСМ 1201» в диапазоне волновых чисел 400–4000 см⁻¹, с разрешением 4 см⁻¹ (сканов-20). ИК-спектр фурацилина снимали в таблетке KBr, а спектры полученных микрокапсул – методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО).

Процесс инкапсуляции в водорастворимые полимеры практически любых биологически активных веществ требует как индивидуального подхода к каждому из БАВ, так и соблюдения некоторых общих закономерностей. В частности, как правило понижение температуры реактора до 3–5 °С приводит к увеличению выхода целевого продукта на 10–20%. Обязательным является применение ПАВ для предотвращения коагуляции системы в процессе осаждения. Также чем выше интенсивность перемешивания, тем более мелкодисперсной получается суспензия микрокапсул и тем меньше вероятность коагуляции этой суспензии. Оптимальная скорость добавления осадителя полимера – от 0,5 до 1,0 мл/мин. Повышение скорости приведет в лучшем случае к выпадению пустого полимера, значительному увеличению размера капсул и формированию недостаточно плотной оболочки капсулы, а в худшем – к коагуляции системы и прекращению процесса. Снижение скорости является не вполне оправданным из-за увеличения временных затрат и увеличения количества осадителя, хотя в этом случае размер микрокапсул может значительно сократиться (в 2–3 раза), а сама система будет более монодисперсной. Данный процесс также очень чувствителен к скорости перемешивания дисперсии. В первую очередь это касается капсулирования в природные полимеры: гуаровую камедь – в большей степени и альгинат натрия – в меньшей. При скорости перемешивания ниже 600 об/мин вместо мелкодисперсного продукта на выходе можем получить довольно крупные агломераты, состоящие из отдельных более мелких капсул. Некоторые характеристики процесса микрокапсулирования и результаты анализа микрокапсул фурацилина приведены в таблице 1.

Таблица 1
Характеристики физико-химического метода микрокапсулирования фурацилина в водорастворимые полимеры

Состав оболочки	Массовое соотношение фурацилин: полимер в реакторе	Осадитель	Выход капсул, %	Содержание фурацилина в капсулах, %
ПВП	1:1	Ацетон	51,8	56,6
ПВП	1:2	Ацетон	48,7	32,5
ПВС	1:1	Ацетон	59,1	55,4
ПВС	1:2	Ацетон	55,3	31,8
Альгинат натрия	1:1	Ацетон	81,2	34,1
Гуаровая камедь	1:1	Этиловый спирт	81,5	33,1

Недостаточно высокие выходы микрокапсул в ПВП и ПВС мы объясняем непригодностью для выделения готового продукта методов фильтрования и центрифугирования. Самые мелкие частицы остаются в фугате во взвешенном состоянии либо проходят через поры фильтра. Наверняка лиофильная или распылительная сушка позволит значительно повысить выходы инкапсулируемого продукта.

Размер полученных капсул подтверждался методом электронной микроскопии при помощи сканирующего электронного микроскопа «QUANTA FEG 650» (рис. 1).

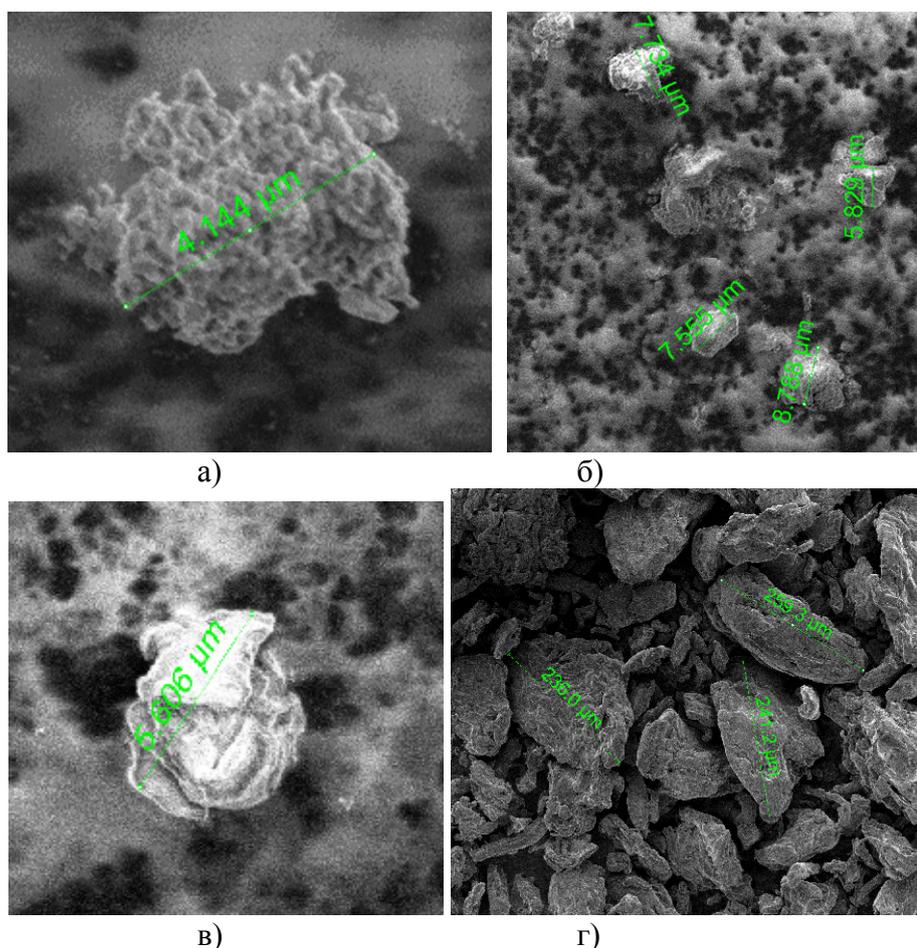


Рис. 1. Микрокапсулы фурацилина а) в ПВП (1:1), б) в ПВС (1:1), в) в альгинате натрия, г) в гуаровой камеди

На представленных микрофотографиях видно, что микрокапсулы фурацилина в синтетических полимерах соединены между собой в агломераты размером от 4 до 10 мкм. Размер индивидуальных капсул по предварительной оценке составил от 200 до 600 нм.

Чтобы более точно оценить дисперсность системы, была приготовлена 1% водная дисперсия микрокапсул фурацилина в ПВС состава 1:1. Визуально такая дисперсия неотличима от истинного раствора. Каплю дисперсии поместили на алюминиевую фольгу и оставили до полного высыхания. Приготовленный таким образом образец исследовали также при помощи сканирующего электронного микроскопа «QUANTA FEG 650» (рис. 2).

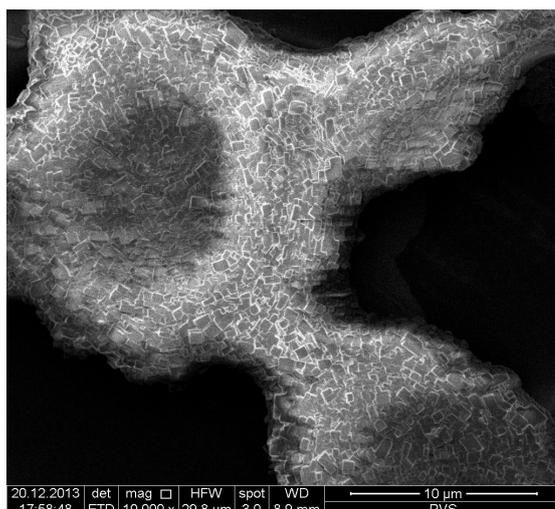


Рис. 2. Микрофотография образца водной дисперсии микрокапсул фурацилина в ПВП

Хорошо видно, что фрагмент сформированного фрактала состоит из отдельных частиц размером до 500 нм. Каждая из этих частиц представляет собой кристаллик фурацилина стабилизированный в растворе водорастворимым полимером.

Та же водная дисперсия микрокапсул фурацилина была исследована методом анализа траекторий частиц на приборе NanoSight NS300 компании Malvern Instruments (Великобритания). Данный метод позволяет проводить измерение распределения частиц по размеру и концентрации. Образец помещается в микрокювету, которая освещается лазерным лучом. При этом отдельные частицы размером от 10 до 2000 нм, то есть менее длины волны, ведут себя как точечные рассеиватели. Камера записывает видео Броуновского движения таких точек. Каждый кадр видеозаписи обрабатывается для диагностики перемещения отдельных частиц. После обработки получаем представленные на рисунке 3 результаты распределения частиц по размерам и концентрации данного размера частиц в исследуемой дисперсии.

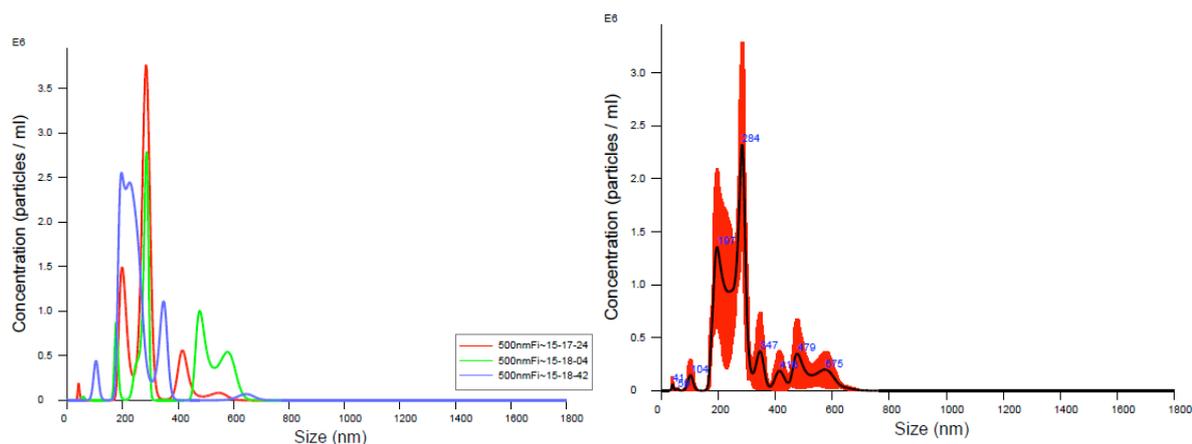


Рис. 3. Распределение наночастиц по размерам в водной дисперсии микрокапсул фурацилина в ПВС

Данные графические зависимости представляют собой результат трех вариантов видеозаписи, причем диаграмма, расположенная справа, является продуктом статистической обработки всех съемок. Полученные результаты свидетельствуют о том, что такая система не является монодисперсной. Тем не менее можно

констатировать, что в максимальной концентрации присутствуют частицы с размером около 300 нм. Максимальный размер частиц около 700 нм, минимальный – около 40 нм. Таким образом, описанными в данной работе методами инкапсуляции и выделения капсул невозможно достичь монодисперсного продукта, хотя вполне возможно, что гетеродисперсность лекарственных форм на основе полученных микрокапсул является залогом достижения более длительного пролонгированного эффекта.

Широкое распространение фурацилин получил благодаря своим антимикробным свойствам. Поэтому интересно было выяснить, как заключение вещества в оболочку из водорастворимого полимера повлияет на эти свойства. Полученные микрокапсулы были исследованы на антимикробную активность по отношению к тест-штаммам микроорганизмов. Определения проводились на базе кафедры микробиологии Курского государственного медицинского университета. Результаты действия водных суспензий микрокапсул фурацилина в ПВП, ПВС, альгинате Na и гуаровой камеди, а также раствора исходного фурацилина в диметилсульфоксиде (ДМСО) и воде на некоторые виды микроорганизмов приведены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты испытаний водных дисперсий микрокапсул фурацилина на противомикробную активность в условиях *in vitro*

Микрокапсулы	С дисперсии (раствора), %	С фурацилина, %	E. coli ATCC 25922	P. aeruginosa ATCC 27853	P. vulgaris ATCC 4636	S. aureus ATCC 25923	B. subtilis ATCC 6633	Candida albicans NCTC 2526
			Зоны задержки роста					
1	2	3	4	5	6	7	8	9
P-р фурацилина в воде *	–	–	7	0	–	10	–	0
P-р фурацилина в ДМСО	1%	1%	26,0–26,0	9,0–8,0	29,0–26,0	30,0–30,0	32,0–30,0	15,0–14,0
	2%	2%	28,0–27,0	10,0–10,0	30,0–30,0	32,0–30,0	35,0–35,0	18,0–16,0
Фурацилин в ПВП(1:1)	1%	0,57%	18,0–18,0	8,0–7,0	9,0–8,0	20,0–18,0	19,0–19,0	21,0–21,0
	2%	1,14%	21,0–20,0	9,0–9,0	14,0–10,0	22,0–22,0	23,0–22,0	25,0–22,0
Фурацилин в ПВС (1:1)	1%	0,55%	25,0–25,0	9,0–8,0	16,0–15,0	25,0–25,0	24,0–24,0	26,0–26,0
	2%	1,1%	26,0–25,0	10,0–10,0	21,0–17,0	26,0–25,0	26,0–24,0	28,0–26,0
Фурацилин в NaAlg	1%	0,34%	25,0–23,0	8,0–8,0	18,0–18,0	26,0–26,0	26,0–24,0	25,0–25,0
	2%	0,68%	28,0–26,0	10,0–8,0	18,0–20,0	28,0–27,0	31,0–30,0	28,0–27,0
Фурацилин в гуаровой камеди	1%	0,33%	26,0–25,0	15,0–14,0	29,0–27,0	30,0–28,0	30,0–27,0	12,0–10,0

* Результат представлен из литературных данных [Алексеев и соавт. 2009]

Таким образом, все водные дисперсии микрокапсулированного фурацилина показывают значительно более высокую активность по сравнению с водным раствором исходного фурацилина. Следует отметить, что антимикробная активность водной дисперсии инкапсулированного в ПВП и ПВС фурацилина в пересчете на капсулированное вещество несколько ниже активности раствора исходного вещества в ДМСО. Исключение составляет активность по отношению к *Candida albicans*. В этом случае наблюдается значительное (до 2 раз) увеличение активности водной дисперсии приготовленного препарата. Возможно, нам удалось добиться увеличения проницаемости клеточной стенки данного вида микроорганизма, а значит, можно говорить о повышении биодоступности микрокапсулированного препарата по сравнению с исходным. При этом следует учитывать, что суспензия микрокапсул

приготовлена в воде, а раствор фурацилина – в ДМСО, который также проявляет некоторую антимикробную активность [Гулякин и соавт. 2014]. Кроме того, ДМСО, в связи с его влиянием на липидный обмен мембран, способен быстро преодолевать кожный барьер и другие биологические мембраны, не повреждая их. То есть ДМСО выступает проводником фурацилина через клеточные стенки микроорганизмов, тем самым повышая его биологическую доступность [Там же]. Этот факт подтвержден результатом, представленным в таблице 2 для водного раствора фурацилина [Алексеев и соавт. 2009]. Намного более эффективным в плане увеличения антимикробной активности препарата оказалось микрокапсулирование в природные полимеры – гуаровую камедь и альгинат натрия. Полученные из микрокапсул дисперсии с низким содержанием фурацилина не уступают по своей активности его растворам в ДМСО.

Путем микрокапсулирования нам удалось создавать высококонцентрированные водные псевдорастворы фурацилина. А так как фурацилин наибольшее распространение получил в качестве антисептика для местного применения, способ повышения его растворимости в воде может значительно расширить область его применения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 4.9516.2017/БЧ).

Библиографический список

Алексеев А.А., Бобровников А.Э., Терехова Р.П., Крутиков М.Г. Микробиологическая оценка эффективности современных антимикробных препаратов для местного лечения ожоговых ран // Комбустиология. 2009. №4 (37). URL: <http://combustiolog.ru/journal/mikrobiologicheskaya-otsenka-e-ffektivnosti-sovremennyh-antimikrobnyh-preparatov-dlya-mestnogo-lecheniya-ozhogovyh-h-ran> (дата обращения: 25.01.2017)

Валуев Л.И., Валуева Т.А., Валуев И.Л., Платэ Н.А. Полимерные системы для контролируемого выделения биологически активных веществ // Успехи биологической химии. 2003. Т. 3. С. 307–328.

Грехнева Е.В., Домашева О.Ю. Получение и анализ микрокапсул фурацилина в водорастворимых полимерах // Всероссийский журнал научных публикаций. 2013. №5 (20). С. 5–8.

Гулякин И.Д., Оборотова Н.А., Печенников В.М. Солюбилизация гидрофобных противоопухолевых препаратов (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2014. Т. 48. №3. С. 46–50.

Маркович Ю.Д., Грехнева Е.В., Ефанов С.А., Климова Л.Г., Юдина О.П. Свойства производных акридона инкапсулированных в водорастворимые полимеры // Известия ЮЗГУ, 2011. №1(34). С.50-55.

Постраш Я.В., Хишова О.М. Микрокапсулирование в фармации – современное состояние и перспективы // Вестник фармации. 2010. №2 (48). С. 1–7.

Сидельковская Ф.П. Химия N-винилпирролидона и его полимеров. М.: Наука, 1970. 160 с.

Способ получения микрокапсул лекарственных препаратов / патент на изобретение №2582274 / Е.В. Грехнева, Т.Н. Кудрявцева; заявитель Курск. гос. ун-т; опубл. 30.03.2016 г.

Степанова Э.Ф., Ким М.Е., Мурзагулова К.Б., Евсеева С.Б. Микрокапсулы: перспективы использования в современной фармацевтической практике // *Фундаментальные исследования*. Пятигорск, 2014. № 3. С. 766–769.

Grekhnyova E.V., Efanov S.A., Kometiani I.B. Soluble forms of some drugs based on sodium alginate // *High-Tech in Chemical Engineering – 2014: Abstracts of XV International Scientific Conference (September 22–26, 2014, Zvenigorod)*. М.: Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies (MITHT Publisher), 2014. P. 142

Dai C., Wang B., Zhao H., Li B., Wang J. Preparation and characterization of liposomes-in-alginate (LIA) for protein delivery system // *Colloids. Surf. B Biointerfaces*. 2006. V. 47. N 2. P. 205–210.