

УДК 541.64:547.458  
МРНТИ 31.25.19

## ИММОБИЛИЗАЦИЯ РИХЛОКАИНА В АЛЬГИНАТЕ КАЛЬЦИЯ

МУСАБЕКОВ К.Б., РАХЫМБАЕВА П.М., МУСАБЕКОВ Н.К.,  
ЕЛЕМЕСОВА К.Ж., ТАЖИБАЕВА С.М.

*Казахский Национальный университет им. аль-Фараби*

**Аннотация:** В статье рассматриваются результаты исследования pH-чувствительности микрочастиц (мч) альгината кальция (CA – ALG) и CA – ALG/GEL содержащего желатин. Установлено, что при изменении pH среды 0,9%-ного раствора NaCl от 1.2 до 7.4 заметно растут набухаемость (Kнаб) и скорость высвобождения рихлокаина из этих частиц. Желатин усиливает этот эффект.

**Ключевые слова:** иммобилизация, альгинат кальция, противоопухолевый препарат, рихлокаин, альгинат натрия, микрочастицы

## IMMOBILIZATION OF THE RICHLOCAINE IN CALCIUM ALGINATE

**Abstract:** The article discusses the results of a study of pH – sensitivity of microparticles of calcium alginate (Ca – ALG) and Ca – ALG/GEL containing gelatine. It was found that when the pH of the medium of a 0.9% NaCl solution changes from 1.2 to 7.4 swelling (Kswell) and the rate of release of richlocaine from these particles noticeably increase. Gelatin enhances this effect.

**Key words:** immobilization, calcium alginate, antitumor drug, richlocaine, sodium alginate, microparticles

## РИХЛОКАИНДЫ КАЛЬЦИЙ АЛЬГИНАТЫНДА ИММОБИЛИЗАЦИЯЛАУ

**Аңдатпа:** Бұл мақалада кальций альгинаты (CA – ALG) және құрамында желатин бар кальций альгинаты (CA – ALG/GEL) микробөлшектерінің pH – сезімталдығын зерттеу нәтижелері талқыланды. 0,9% - дық NaCl ерітіндісінде ортаның pH мәні 1.2- ден 7.4 – ке дейін өскенде ісіну және микробөлшектерден рихлокаинның босап шығу жылдамдығы едәуір артатыны анықталды. Бұл әсерді желатин күшейтеді.

**Түйінді сөздер:** иммобилизация, кальций альгинаты, ісікке қарсы дәрілік зат, рихлокаин, натрий альгинаты, микробөлшектер

### Введение

Проблема борьбы с онкологическими заболеваниями по-прежнему остаётся одной из главных задач современного здравоохранения. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), злокачественные опухоли являются второй по частоте причиной смертности после сердечно-сосудистых

заболеваний. В мире ежегодно выявляются около 9 млн. новых случаев заболевания раком, из которых около 40% погибают в первый год заболевания [1,2]. Эта проблема актуальна также для Казахстана. Высокая летальность и низкое качество жизни онкологических больных являются причиной поиска

новых методов лечения злокачественных новообразований, а также разработки новых противоопухолевых препаратов.

Одним из путей улучшения химиотерапии опухолей является применение новых наноструктурированных микрочастиц на основе водорастворимых полимеров [3-14]. Полимерные формы цитостатиков позволяют повысить терапевтический эффект за счет создания высоких локальных концентраций препарата в зоне опухоли в течение длительного времени [3,4].

Для получения полимерных лекарственных форм использованы многие обезболивающие препараты. Особый интерес представляет новый оригинальный препарат рихлокаин (гидрохлорид 1 – пропен – 2 – ил – 3,5 – диметил – 4 – бензоилокси – пиперидина), обладающий широким спектром физиологического действия – местноанестезирующей противовоспалительной, антиаритмической, противосудорожной и дермопротекторной активностью [15-20].

Он синтезирован казахстанскими ученым – академиком А.Ш. Шарифкановым, профессорами Ш.С. Ахмедовой, К.Б. Мырзагуловой и др. [15].

Рихлокаин обладает высокой активностью при всех видах анестезии, превосходящую по действию новокаин, тримекаин и мекдокаин [16]. Однако, этот препарат обладает относительно кратковременным действием, что требует его частого введения в организм. Поэтому получение новых лекарственных форм рихлокаина представляет собой значительный научный и практический интерес.

Перспективным носителем противоопухолевых препаратов являются микрочастицы (мч) альгината кальция ( $Ca - ALG$ ). Ранее нами показано, что с ростом содержания гулуруновых групп в альгинате натрия ( $Na - ALG$ ), из которого получают микрочастицы альгината кальция ( $Ca - ALG$ ), снижения концентрации противоопухолевого препарата циклофосфида (ЦФА), а также при увеличении толщины хитозанового покрытия на этих частицах уменьшается скорость высвобождения из них ЦФА.

Целью настоящего исследования является изучение влияния желатина, включенного в состав микрочастиц  $Ca - ALG/GEL$ , на pH чувствительность этих частиц, используемых для разработки новых полимерных лекарственных форм с пролонгированным обезболивающим действием.

### Экспериментальная часть

В работе использовали натриевую соль альгиновой кислоты ( $Na - ALG$ ), содержащую маннуриновую и гулуриновую кислоты в соотношении 1,85, со среднечисленной молекулярной массой  $1,08 \cdot 10^5$  (“Sigma”, США). Соотношение маннуриновых и гулуриновых звеньев в  $Na - ALG$  определяли на основании их ИК – с Фурье преобразованием спектров по известной методике [16]. Хлорид кальция ( $CaCl_2$ ), гранулированный по ГОСТ 4460 – 77, соляная кислота ( $HCl$ ) и гидроксид натрия ( $NaOH$ ) квалификации “х.ч.” получены от “Реахим”, Россия.

### Приготовление микрочастиц альгината кальция

Микрочастицы  $Ca - ALG$  получили по [21]. Отфильтрованный 2%-ный водный раствор  $Na - ALG$  (20 мл) добавляли капельно через шприц под постоянным давлением воздуха в водный раствор хлорида кальция с концентрацией 0,1 моль/л со скоростью 1,0 мл/мин. Готовые частицы альгината кальция выдерживали в растворе  $CaCl_2$  в течение 30 минут, промывали дистиллированной водой в течение 1,5 – 2,0 мин и помещали в холодильник. Иммунизацию лекарственного препарата проводили, добавляя его в раствор альгината натрия, вводимый в раствор  $CaCl_2$  капельно. Частицы альгината кальция, содержащие иммобилизованный лекарственный препарат, промывали дистиллированной водой и также хранили в холодильнике.

### Сканирующая электронная микроскопия

Снимки сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) альгинатных частиц получали на электронно-зондовом микроанализа-

торе “Superprobe 733” (“JEOL”, Япония), снабженном энергодисперсионным спектрометром “INCA ENERGY” (“Oxford Instruments”, Англия), при ускоряющем напряжении 25 кВ и токе зонда 25 нА. Порошок наносили на проводящую липкую ленту и для улучшения контраста изображения покрывали его тонким слоем золота в установке “FINE COAT”. Съемку осуществляли в режиме вторичных электронов.

Набухаемость ( $K_{наб}$ ) микрочастиц *Ca – ALG* и *Ca – ALG/GEL* определяли по изменению массы микрочастиц при набухании. Для этого 25 мг мч погружали в 100 мл 0,9% раствора *NaCl* с определенным значением pH, который создавали с помощью растворов *HCl* или *NaOH*. По истечении определенного времени микрочастицы отделяли от раствора фильтрованием, обсушивали фильтровальной бумагой и взвешивали. Затем их снова погружали в раствор *NaCl*.

Расчет коэффициента набухания ( $K_{наб}$ ) проводили по уравнению:

$$K_{наб} = \frac{m_t - m_0}{m_0}.$$

Где  $m_t$  и  $m_0$  представляют собой массу набухших к моменту времени  $t$  и сухих микрочастиц *Ca – ALG*.

Кинетику выделения RICH из микрочастиц *Ca – ALG* и *Ca – ALG/GEL* оценивали по изменению оптической плотности 0,9%-ных растворов *NaCl*, содержащих микрочастицы с иммобилизованным ЛПП при различных значениях pH раствора.

### Результаты и их обсуждение

Иммобилизация лекарственных препаратов (ЛПП) в полимерных носителях зависит от индивидуальных особенностей ЛПП и физико-химических свойств полимера. Модифицируя физическую и химическую структуру полимерного носителя, удается варьировать скорость высвобождения иммобилизованного в них ЛПП.

Ранее показано, что при повышении температуры сушки микрочастиц альгината кальция (*Ca – ALG*), увеличении содержания гулурановых звеньев в альгинат на-

трия (*Na – ALG*), из которого синтезируют микрочастицы *Ca – ALG*, и с ростом толщины адсорбционного слоя хитозана (ХТН) на этих частицах скорость высвобождения иммобилизованного в них противоопухолевого препарата ЦФА заметно снижается [21]. Это означает усиление пролонгирующего действия микрочастиц *Ca – ALG* на ЦФА.

Важным структурно-чувствительным фактором при формировании микрочастиц *Ca – ALG* является концентрация раствора *CaCl2*, где образуются эти микрочастицы. С помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) установлено, что микрочастицы с плотной однородной структурой образуются в 0,1 моль/л растворе *CaCl2* (рис.1).

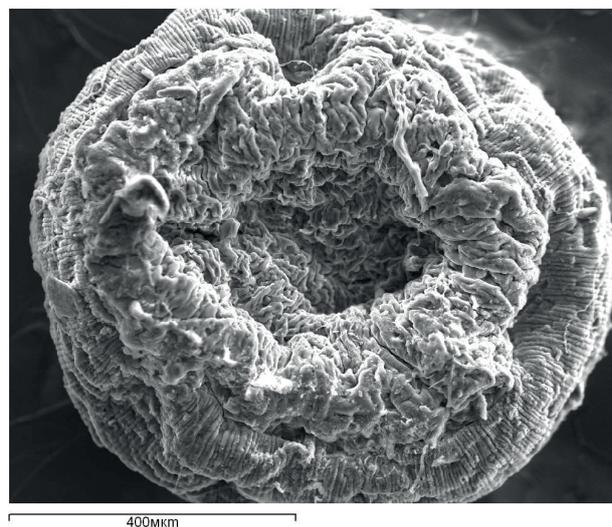


Рис. 1 – СЭМ снимок микрочастицы *Ca – ALG*, полученной в 0,1 моль/л растворе *CaCl2*

В настоящей работе основное внимание уделено изучению влияния желатина, включенного в состав микрочастиц *CA – ALG/GEL*, на pH-чувствительность этих частиц. Ее определяли по изменениям набухаемости микрочастиц и скорости высвобождения из них RICH в 0,9% растворах *NaCl* при значениях pH = 1,2, 5,0 и 7,4.

Изучение влияния pH среды на набухаемость микрочастиц *Ca – ALG* и *Ca – ALG/GEL* показали значительный рост  $K_{наб}$  с ростом pH (рис.2).

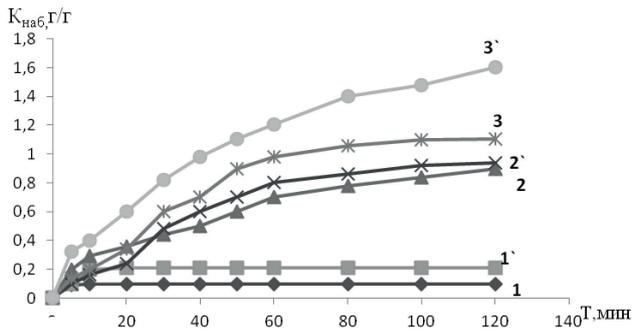
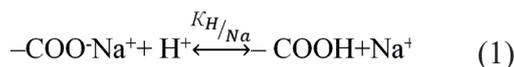


Рис. 2 – Кинетика набухания микрочастиц *Ca – ALG* (1-3) и *Ca – ALG/GEL* (1' - 3') в 0,9% растворе *NaCl* при  $pH=1.2(1,1')$ ;  $5.0(2,2')$  и  $7.4(3,3')$ .  $T=293K$ .

Наименьшая набухаемость обеих микро-частиц наблюдается при  $pH=1.2$ , а ее наибольшие значения – при  $pH=7.4$ . Различия в значениях  $K_{наб}$  микро-частиц при  $pH = 5.0$  несущественны.

Наблюдаемое явление может быть связано с изменением при вариации  $pH$  среды, диссоциации функциональных групп  $-COO^-Na^+$  микро-частиц *Ca – ALG* и  $-NH_2$ ,  $-COOH$  групп желатина.

Рассмотрим сначала влияние  $pH$  среды на состояние  $-COO^-Na^+$  групп мч *Ca – ALG*. С ростом концентрации ионов  $H^+$ , т.е. при понижении  $pH$  среды, ионообменная реакция:



Согласно закону действующих масс смещается вправо. Этому способствует та избирательная сорбция ионов  $H^+$  на карбоксильных катионитах по сравнению с одновалентными катионами металлов [22]. Это может привести к снижению гидратируемости микро-частиц *Ca – ALG*.

При высоких значениях  $pH$  среды карбоксильная группа микро-частиц *Ca – ALG* находится, в основном, в сильно гидратированной солевой ( $-COO^-Na^+$ ) форме, обуславливая повышение  $K_{наб}$  микро-частиц.

Макромолекулы желатина в составе микро-частиц *Ca – ALG/GEL* также реагируют на изменения  $pH$  среды – при низких значениях  $pH$ , они в результате протонизации  $-NH_2$  групп, заряжаются положительно, что способствует

росту ее гидрофильности. Однако, при этом возможна также формирование интер- и интрамолекулярных ассоциатов  $-COOH$  групп с  $-NH_2$  группами желатина, приводящего к снижению  $K_{наб}$  микро-частиц. При повышении  $pH$  среды макромолекула желатина заряжаются отрицательно из-за подавления протонизации  $-NH_2$  групп и улучшения диссоциации карбоксильных групп. Таким образом, существенный рост  $K_{наб}$  микро-частиц *Ca – ALG/GEL* при  $pH = 7.4$  может быть обусловлен ростом их общего отрицательного заряда.

Представляет интерес выяснение влияния изменения  $pH$  среды на скорость высвобождения *Rich* из микро-частиц *Ca – ALG* и *Ca – ALG/GEL* в физиологический раствор.

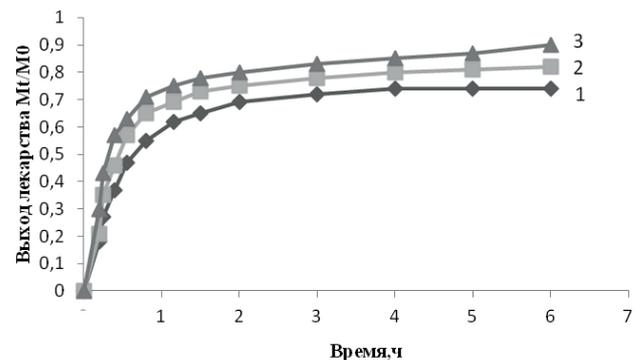


Рис. 3 – Кинетика высвобождения рихлокаина из микро-частиц *Ca – ALG* в 0,9%-ный раствор *NaCl* при  $pH = 1.2(1), 5.0(2)$  и  $7.4(3)$ . Содержание рихлокаина в микро-частицах  $100 \text{ мг/г}$ .  $T=293K$

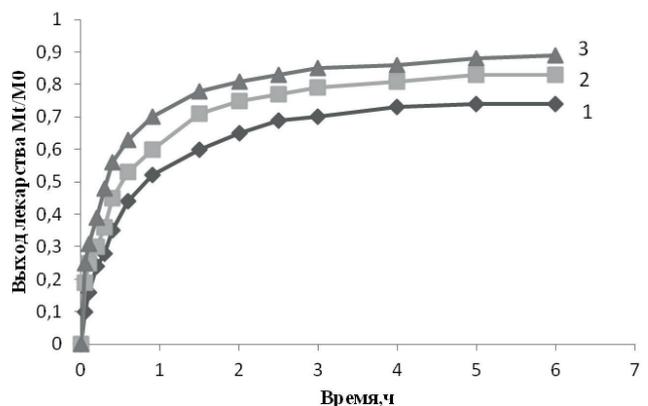


Рис. 4 – Кинетика высвобождения рихлокаина из микро-частиц *Ca – ALG/GEL* в 0,9%-ный раствор *NaCl* при  $pH = 1.2(1), 5.0(2)$  и  $7.4(3)$ . Содержание рихлокаина в микро-частицах  $100 \text{ мг/г}$ .  $T=293K$

Обнаруженное явление наблюдается также в микрочастицах *Ca – ALG/GEL* (рис.4). На основании большей набухаемости мч *Ca – ALG/GEL* можно было ожидать ускорения высвобождения ЛП. Однако, ожидаемый эффект не получен. Это может быть связано с большей, чем в микрочастицах *Ca – ALG/GEL*, плотностью полимерной сетки мч *Ca – ALG/GEL*, обусловленной содержащимися в их структуре макромолекулами желатина, ограничивающими диффузию молекул ЛП.

Расчеты показывают, что введенное в структуру микрочастиц *Ca – ALG/GEL* количество желатина увеличивает плотность сетки на ~30 %.

Дополнительным фактором, ограничивающим скорость высвобождения рихлокаина из микрочастиц *Ca – ALG/GEL* может быть также увеличение плотности отрицательного заряда полимерной сетки при повышении pH среды, усиливающей электростатическое связывание катионов  $Rich^+$ .

Таким образом, результаты исследования показывают, что введением pH чувствительных макромолекул желатина в состав микрочастиц *Ca – ALG/GEL*, можно усилить pH чувствительность этих микрочастиц, которая проявляется в увеличении набухаемости и скорости высвобождения ЛП.

Работа выполнена при финансовой поддержке КН МОН РК (проект AP05132247 "Разработка технологии получения нано- и микроглин из монтмориллонита").

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Newell D.R. Recent advances and future trends in cancer chemotherapy // Paediatric oncology. – London, 1995. – P.508-530.
2. Dorn K., Hoerpel G., Ringsdorf H. Polymeric antitumor agents on a molecular and cellular level // Bioactive Polymeric Systems/ An Overview. C. Gebelein, C. Cahhaher eds. –NY., 1985. – P. 531-585.
3. Брусенцов Н.А. Возможности и перспективы применения транспортных и магнитоуправляемых депо-форм противоопухолевых препаратов // Журн. ВХО им. Д.И.Менделеева. – 1987. – Т.32, № 5. – С. 562-568.
4. Батырбеков Е.О., Искаков Р.М., Жубанов Б.А. Основные тенденции в области полимерных противоопухолевых препаратов // Известия МОН РК. Сер.химич. 2000. №1. – С.57-66.
5. Жубанов Б.А., Мусабеков Н.К., Рухина Л.Б., Батырбеков Е.О. Применение карбоксиметилцеллюлозы и пектовой кислоты для пролонгирования действия клофелина.// Известия НАН РК. Серия химическая. – 1993. – №1. – С.61-65.
6. Cui – Yang Yu, Bo – Cheng Yin, Wei Zhang, Si – Xue Cheng, Xian –Zheng Zhang, ren – Xi Zhuo. Composite microparticle drug delivery systems based on chitosan, alginate and pectin with improved pH – sensitive drug release property // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 68 (2009) 245 -249.
7. Жубанов Б.А., Батырбеков Е.О., Рухина Л.Б., Мусабеков Н.К., Нурмухамбетова Б.И., Ахмедова Ш.С. Взаимодействие рихлокаина с природными полимерами.// Известия НАН РК. Сер. Хим. – 1994. – №5. – С.67-71.
8. Батырбеков Е.О., Болдырев Д.Ю., Мусабеков Н.К., Искаков Р.М., Жубанов Б.А. Полимерные материалы с пролонгированным обезболивающим действием // Вестник НАН РК. – 2004. – №1. – С.124-129.
9. Мусабеков Н.К., Батырбеков Е.О., Искаков Р.М., Жубанов Б.А., Ахмедова Ш.С. Водорастворимые лекарственные формы рихлокаина на основе пектовой кислоты // Вестник КазНУ. Серия химическая. – 2004. – №3(35). – С.230-232.

10. Батырбеков Е.О., Мусабеков Н.К., Исакаев Р.М., Жубанов Б.А. Дизайн гипотензивного и местноанестезирующего препаратов с пролонгированным действием. // Вестник КазНУ. Серия хим. – 2004. – №3(35). – С.233-239.
11. Dumitriu S. Polysaccharides as Biomaterials, in Polymeric Biomaterials. Second Ed. by S. Dumitriu, ed. Marcel Dekker. Inc., N.Y. 2002, P. 1-51.
12. Tonnesen H.H., Karlsen J. Alginate in Drug Delivery System // Drug Dev. And Ind. Pharm. – 2002. – Vol.28, №6. – С. 621-630.
13. Платэ Н.А., Васильев А.Е. Физиологически активные полимеры. – М., 1986. – 296 с.
14. MakyshG.Sh., Vimendina L.A., Kudaibergenov S.E. Interaction of richlocain with some linear and crosslinked polymers // Polymer. 2002. V.43. P. 4349 – 4353.
15. Пат. № 3191 РК. Рихлокаин. Местноанестезирующий препарат, обладающий одновременно противовоспалительной, антириатмической, противосудорожной и дерматопротекторной активностью / А.Ш. Шарифканов, Ш.С. Ахмедова, К.Б. Мурзагулова, Г.И. Самарина, П.А. Галенко-Ярошевский;опубл. 13.04.1998.
16. Шарифканов А.Ш., Ахмедова Ш.С., Мурзагулова К.Б., Самарина Г.И., Галенко-Ярошевский П.А. Рихлокаин местноанестезирующий препарат широкого спектра действия // Фарм. Бюллетень. – 1998. – № 18. – С.18.
17. Ахмедова Ш.С., Амираев Р.У. Исследование клинической эффективности местнообезболивающего средства – рихлокаин (обзор) // Наука и новые технологии Киргизской Республики. – 2000. – № 3. – С. 37-42.
18. Бордюшков Ю.Н., Голотина Л.Ю., Ерохина Н.В. Рихлокаин как иммунопротектор и активатор противоопухолевых препаратов // Медицинский вестник. – 2000. – № 4. – С. 103-107.
19. Предпатент №2000/1312.1 РК, МПК А61К31/00. Состав для местной анестезии при лечении стоматологических заболеваний / М.К. Бейсебеков, А.К. Токтабаева, А.К. Шоинбекова, Б.А. Абдыкадырова, Ж.А. Абилов, Л.Я. Зазулевская, Ш.С. Ахмедова. – Оpubл.14.12.2000.
20. Бейсебеков М.К., Токтабаева А.К., Абилов Ж.А., Нурлибаев А.К. Ахмедова Ш.С. Исследование свойств желатиновых и агар-агаровых гелей с рихлокаином // Фармацевт. бюл. – 2000. – №9. – С. 33-35.
21. Д. Григорьев, К.Б. Мусабеков, Н.К. Мусабеков, Ж.Ж. Кусаинова. Иммобилизация противоопухолевого препарата Циклофосфамид в альгинате кальция // Высокомолек.соединения. Серия А., – 2017. – Т. 59. – №4. – С.341-349.
22. Д. Райхенберг. Селективность ионного обмена. 13 сб.“Ионный обмен”, под ред. Я. Маринского. – М.: изд.Мир, 1968. – С.104-173.