

Разработка гидрофильного геля на основе сульфатированного арабиногалактана

В.В. Костыро, Я.А. Костыро

ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Современный фармацевтический рынок предлагает очень ограниченный ассортимент лекарственных средств для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности. Оригинальное фармакологически активное соединение на основе калиевой соли сульфатированного производного арабиногалактана (Агсулар®) является аналогом гепарина.

Цель. Разработка гидрофильного геля на основе Агсулар® (1.5%).

Материалы и методы. Модельные композиции готовили по традиционным методикам изготовления гелей. Физико-химические свойства полученных образцов оценивали методами потенциометрии, динамической реологии и динамического светорассеяния. Также оценивалась микробиологическая чистота гелей при хранении.

Результаты. Обоснован оптимальный состав гидрофильного геля, содержащий в качестве действующего вещества Агсулар® (1.5%). Это водно-аэросил-глицеринсодержащая композиция (в соотношении компонентов 1:2:13 соответственно). Исследования pH, динамической вязкости и дзета-потенциала подтверждают стабильность этого геля. Введение консерванта (нипагин 0.1%) обеспечивает микробиологическую чистоту геля при хранении.

Заключение. Разработанный гидрофильный гель является перспективным средством профилактики и лечения хронической венозной недостаточности.

Ключевые слова: сульфатированный арабиногалактан, Агсулар®, гель, аэросил.

Образец цитирования: Костыро В.В., Костыро Я.А. Разработка гидрофильного геля на основе сульфатированного арабиногалактана // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):116–127. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-116-127

Development of hydrophilic gel based on sulfated arabinogalactan

V.V. Kostyuro, Ya.A. Kostyuro

A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Irkutsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. The modern pharmaceutical market offers a very limited range of medicines for the prevention and treatment of chronic venous insufficiency. The original pharmacologically active compound based on the potassium salt of the sulfated derivative of arabinogalactan (Agsular®) is an analog of heparin.

Aim. Development of a hydrophilic gel based on Agsular®.

Materials and methods. Model compositions were prepared according to traditional methods of gels preparation. The physical and chemical properties of the obtained samples were evaluated by methods of potentiometry, dynamic rheology and dynamic light scattering. The microbiological purity of the gels during storage was also evaluated.

Поступила в редакцию 23.07.2021
Прошла рецензирование 10.09.2021
Принята к публикации 01.10.2021

Автор, ответственный за переписку
Костыро Яна Антоновна: ФГБУН Иркутский институт химии им.
А.Е. Фаворского СО РАН. 664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1.
E-mail: yanakos@irioch.irk.ru

Received 23.07.2021
Revised 10.09.2021
Accepted 01.10.2021

Corresponding author
Yana A. Kostyuro: A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, 1, Favorsky
str., Irkutsk, 664033, Russia.
E-mail: yanakos@irioch.irk.ru

Results. The optimal composition of the hydrophilic gel containing Agsular® (1.5%) as the active substance is substantiated. This is a water-aerosil-glycerol-containing composition (the mixture ratio being 1:2:13 respectively). Studies of pH, dynamic viscosity and zeta potential confirm the stability of this gel. The introduction of a preservative (Nipagin 0.1%) ensures the microbiological purity of the gel during storage.

Conclusion. The developed hydrophilic gel is a promising mean of prevention and treatment of chronic venous insufficiency.

Keywords: sulfated arabinogalactan, Agsular®, gel, aerosil.

Citation example: Kostyro V.V., Kostyro Ya.A. Development of a hydrophilic gel based on sulfated arabinogalactan. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):116–127. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-116-127

ВВЕДЕНИЕ

Современный фармацевтический рынок России имеет весьма ограниченный ассортимент лекарственных средств топического действия для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности, обладающих поливалентным механизмом действия, т.е. оказывающих флеботонизирующее, ангиопротекторное действие, а также уменьшающих агрегацию тромбоцитов и ускоряющих процессы регенерации.

Одним из таких лекарственных средств является гепарин, его субстанция относится к классу органопрепаратов, получаемых из легких крупного рогатого скота и слизистой оболочки тонкого кишечника свиней [1, 2]. Существенными недостатками подобных лекарственных средств являются: во-первых, наличие в их составе следов белка и гистаминоподобных веществ, что может привести к появлению аллергических реакций при применении, а во-вторых, так как это органопрепараты, они имеют сложный состав, не всегда являющийся постоянным (как в процессе производства, так и в процессе хранения), что приводит к отсутствию адекватных методов его стандартизации [3]. Поэтому поиск аналогов гепарина, лишенных его недостатков, является весьма актуальной задачей медицинской и фармацевтической науки.

В Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН разработано оригинальное фармакологически активное соединение – калиевая соль сульфатированного производного арабиногалактана (Агсулар®) (рис. 1) [4, 5]. Его безопасность и фармакологическая активность подтверждены экспериментальными доклиническими исследованиями, проведенными Научно-клиническим центром токсикологии им. акад. С.Н. Голикова ФМБА (г. Санкт-Петербург) и показавшими перспективность использования Агсулар® в медицинской практике в качестве гипополипидемического и антикоагулянтного средства, подобного гепарину [6, 7].

INTRODUCTION

The modern pharmaceutical market of Russia has a very limited range of topical medicines for the prevention and treatment of chronic venous insufficiency, which have a polyvalent mechanism of action, i.e. phlebotonic, angioprotective effect, as well as reducing platelet aggregation and accelerating regenerative processes.

One of such medicines is heparin, its substance belongs to the class of organopreparations obtained from the lungs of cattle and the mucous membrane of the small intestine of pigs [1, 2]. Significant disadvantages of such medicines are: firstly, the presence of protein traces and histamine-like substances in their composition, which can lead to allergic reactions when used, and, secondly, since these are organopreparations, and have a complex composition that is not always constant (both during production and during storage), which results in the lack of adequate methods of its standardization [3]. Therefore, the search for analogues of heparin, devoid of its disadvantages, is a very urgent task of medical and pharmaceutical science.

An original pharmacologically active compound has been developed in A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry (Irkutsk, Russia), the potassium salt of the sulfated derivative of arabinogalactan (Agsular®) (Fig. 1) [4, 5]. Its safety and pharmacological activity have been confirmed by experimental preclinical studies conducted by the S.N. Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology (St. Petersburg) and showed the prospects of Agsular® use in medical practice as a heparin-like hypolipidemic and anticoagulant agent [6, 7].

Since Agsular® is a highly water-soluble compound, the most rational and optimal from technological point of view, as well as taking into account its physical and chemical properties and the range of modern excipients, is a semisolid dosage form of topical action, that is a hydrophilic-based ointment in the form of a gel.

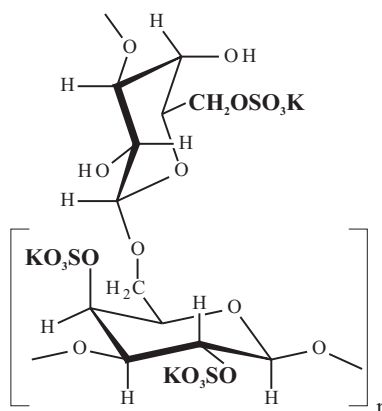


Рис. 1. Фрагмент структуры Агсулар®
Fig. 1. Fragment of the Agsular® structure

Так как Агсулар® является хорошо растворимым в воде соединением, то наиболее рациональной и оптимальной с технологической точки зрения, а также с учетом его физико-химических свойств и ассортимента современных вспомогательных веществ является мягкая лекарственная форма топического действия – мазь на гидрофильной основе, представленная в виде геля.

Расчет эффективной терапевтической концентрации Агсулар® (1.5%) в геле был произведен на основании проведенных доклинических исследований и по аналогии с официальным препаратом для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности на основе гепарина «Гепариновая мазь» (ЛС-000483, 100 ЕД/г мази, АО «Алтайвитамины», Россия) [8] – мазь топического действия, содержащая минимальное количество гепарина и проявляющая оптимальное терапевтическое действие.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка гидрофильного геля, содержащего в качестве действующего вещества Агсулар® (1.5%).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения гелей использованы: фармакологически активное соединение Агсулар®, полученное на основе арабиногалактана (ФС-000905) [8] согласно методике [4, 5] с чистотой 98 %; Аэросил® (коллоидный диоксид кремния) – AEROSIL® 200 Pharma (ФС-000068, Evonik Degussa, Германия) [8]; вода очищенная (ФС.2.2.0020.18) [9]; глицерол (ФС.2.2.0006.15) [9]; карбомер – Carbopol® EDT 2001 (Lubrizol, Германия) [10]; нипагин (methylparaben, CAS No. 99-76-3, Sigma-Aldrich, США); триэтанолламин (ТЭА) (чистый) (ТУ 2423-168-00203335-2007, Россия).

The calculation of the effective therapeutic concentration of Agsular® (1.5%) in the gel was made on the basis of preclinical studies and by analogy with the official heparin-based preparation for the prevention and treatment of chronic venous insufficiency Heparin ointment (LS-000483, 100 U/g of ointment, Altaivitamins, JSC, Russia) [8], topical ointment containing a minimum amount of heparin and showing optimal therapeutic effect.

AIM OF THE RESEARCH

Development of a hydrophilic gel containing Agsular® (1.5%) as an active agent.

MATERIALS AND METHODS

To obtain gels, the following were used: pharmacologically active compound Agsular®, derived from arabinogalactan (FS-000905) [8] according to the method [4, 5] with a purity of 98%; Aerosil® (colloidal silicon dioxide) – AEROSIL® 200 Pharma (FS-000068, Evonik Degussa GmbH, Germany) [8]; purified water (FS.2.2.0020.18) [9]; glycerol (FS.2.2.0006.15) [9]; carbomer – Carbopol® EDT 2001 (Lubrizol Deutschland GmbH, Germany) [10]; Nipagin (methylparaben, CAS No. 99-76-3, Sigma-Aldrich Corp, USA); triethanolamine (TEA) (pure) (Technic Specification 2423-168-00203335-2007, Russia).

The pH of the gels was measured by the potentiometric method (General Pharmacopeia Monograph (GPM).1.2.1.0004.15 [9]) at a temperature of 20°C using an Expert-pH pH-meter (Econix-Expert, LLC, Russia).

The study of the rheological properties of gels was carried out by dynamic rheology (GPM.1.2.1.0015.15 [9]) on a modified Rheotest 2.1 rotational viscosimeter (Rheotest Medingen GmbH, Germany) with a cylinder-cylinder measuring module (ratio between

Измерение pH гелей проводили потенциометрическим методом (ОФС.1.2.1.0004.15 [9]) при температуре 20 °С с использованием pH-метра «Эксперт-pH» (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия).

Исследование реологических свойств гелей осуществляли методом динамической реологии (ОФС.1.2.1.0015.15 [9]) на модифицированном реовискозиметре Rheotest 2.1 (Германия) с измерительным модулем «цилиндр-цилиндр» (отношение между радиусами 1.02) в режиме контролируемой скорости сдвига. Скорость сдвига изменяли в пределах 0.1–800 с⁻¹.

Дзета-потенциал гелей измеряли методом динамического светорассеяния с использованием прибора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Великобритания). Измерения проводились в стеклянных кюветах 1×1 см с квадратной горловиной для безводных образцов с использованием универсальных погружных электродов. Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения семейства Dispersion technology Zetasizer family software v7.01 (Malvern Instruments Ltd, Великобритания).

Дзета-потенциал – основной показатель стабильности коллоидных систем в жидких средах. Его значение (±30 мВ), являющееся характерным для условного разделения низко-заряженных и высоко-заряженных поверхностей, считается пороговым для стабильных систем [11].

Определение микробиологической чистоты проводили на средней пробе (10 г) каждого геля в соответствии требованиями ОФС.1.2.4.0002.18 [9].

Исследования долгосрочной стабильности гелей проводились при хранении в естественных условиях, обеспечивающих комнатную температуру (+15...–25 °С), относительную влажность воздуха не более 50 % и защиту от прямых солнечных лучей. Физико-химические свойства, включая внешний вид, pH, динамическую вязкость, дзета-потенциал и микробиологическую чистоту, определяли с интервалом 3 мес на протяжении 1 года.

Все полученные данные были статистически обработаны ($p = 95\%$) при помощи критерия Стьюдента в соответствии требованиями ОФС.1.1.0013.15 [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день в мировой фармацевтической практике для приготовления гелей наиболее широкое распространение получили синтетические высокомолекулярные полимеры акриловой кислоты, сшитые аллиловым эфиром сахарозы или пентаэритрита, называемые ред-

radii is 1.02) in a controlled shear rate mode. The shear rate was varied within 0.1–800 s⁻¹.

The zeta potential of the gels was measured by dynamic light scattering using a Zetasizer Nano ZS device (Malvern Instruments Ltd, UK). Measurements were carried out in 1×1 cm glass cuvettes with a square neck for anhydrous samples using universal immersion electrodes. The results were processed using a Dispersion technology Zetasizer family v7.01 software (Malvern Instruments Ltd, UK).

Zeta potential is the main indicator of the stability of colloidal systems in liquid media. Its value (±30 mV), which is characteristic of the conditional separation of low- and highly-charged surfaces, is considered the threshold for stable systems [11].

Microbiological purity was determined on an average sample (10 g) of each gel in accordance with the requirements of GPM.1.2.4.0002.18 [9].

Studies of the long-term stability of the gels were carried out when stored in natural conditions that provide room temperature (+15...–25°C), relative humidity of no more than 50% and protection from direct sunlight. Physical and chemical properties, including appearance, pH, dynamic viscosity, zeta potential and microbiological purity, were determined at intervals of 3 months over the period of 1 year.

All the data obtained were statistically processed ($p = 95\%$) using the Student's *t*-test in accordance with the requirements of GPM.1.1.0013.15 [9].

RESULTS AND DISCUSSION

To date, in the world pharmaceutical practice, the synthetic high-molecular polymers of acrylic acid, crosslinked with allyl ether of sucrose or pentaerythritol, called lightly crosslinked acrylic polymers or carbomers, have become the most widely used compounds for the preparation of gels.

To develop a hydrophilic gel containing Agsular® (a water-soluble high-molecular compound that is a sufficiently strong electrolyte) from a large assortment of carbomers presented in Russia, the Carbopol® EDT 2001 was selected, a low-toxic gel-forming agent that swells very quickly in water and easily disperses without the formation of lumps, as well as having high stability in the presence of electrolytes [10].

The aqueous solution of Agsular® (1.5%) has a pH 5.2–5.3, therefore, the gel of the neutralized carbomer after adding a solution of the active substance to it should have a pH 5.25 ± 5% (4.99–5.51), which corresponds to the physiological pH value of the skin (5.5) [12]. To obtain a transparent gel, pure

косшитыми акриловыми полимерами или карбомерами.

Для разработки гидрофильного геля, содержащего Агсулар® (водорастворимое высокомолекулярное соединение, являющееся достаточно сильным электролитом), из большого ассортимента карбомеров, представленных в России, был выбран Carbopol® EDT 2001 – малотоксичный гелеобразователь, очень быстро набухающий в воде и легко диспергирующийся без образования комков, а также имеющий высокую стабильность в присутствии электролитов [10].

Водный раствор Агсулар® (1.5%) имеет pH 5.2–5.3, поэтому гель нейтрализованного карбомера после внесения в него раствора действующего вещества должен иметь значение pH $5.25 \pm 5\%$ (4.99–5.51), что соответствует физиологическому значению pH кожи (5.5) [12]. Для получения прозрачного геля в качестве нейтрализующего агента использовали ТЕА в чистом виде, что является весьма рациональным и технологически выгодным решением, поскольку позволяет направить на стадию набухания полимера практически всю массу воды очищенной по прописи и исключает технологическую стадию приготовления раствора-нейтрализатора. Использование ТЕА позволяет поддерживать pH геля на заданном уровне, в результате чего не требуется введение дополнительных вспомогательных веществ, регулирующих pH лекарственной формы.

Оптимальная концентрация карбомера и количество ТЕА, необходимое для получения 1.5% геля Агсулар® с заданным pH, была определена при помощи модельных образцов (КА1–КА4) (табл. 1).

Как видно из представленных данных, традиционно используемые для получения гелей топического действия концентрации карбомера до 1% (в этом случае гелеобразование происходит намного эффективнее) не приводят к получению вязко-пластичной гелевой системы. В технической документации [10] допускается применение карбомера в концентрации до 3% (КА4), однако в результате исследования реологических свойств данного геля было установлено, что разработанный состав не является оптимальным, так как его реологические характеристики не удовлетворяют требованиям «технологического реологического оптимума экструзии» для гидрофильных гелей [13] (рис. 2), а технология получения геля экономически невыгодна и может привести в дальнейшем к удорожанию конечного продукта.

В связи с этим для дальнейшего изучения в качестве гелеобразователя был выбран коллоид-

ТЕА was used as a neutralizing agent, which is a very rational and technologically advantageous solution, since it allows to direct almost the entire mass of water purified according to the prescription (GM) to the swelling stage of the polymer, and excludes the technological stage of preparation of the neutralizing solution. The use of TEA makes it possible to maintain the pH of the gel at a given level, so the introduction of additional auxiliary substances regulating the pH of the dosage form is not required.

The optimal carbomer concentration and the amount of TEA required to obtain 1.5% Agsular® gel with a given pH was determined using model samples (KA1–KA4) (Table 1).

As can be seen from the presented data, carbomer concentrations up to 1% are traditionally used to produce topical action gels (thus, gelation occurs much more efficiently) do not lead to the formation of a viscous-plastic gel system. In the technical documentation [10], the use of carbomer in concentrations up to 3% (KA4) is allowed, however, as a result of the study of the rheological properties of this gel, it was found that the developed composition is not optimal, since its rheological characteristics do not meet the requirements of the technological rheological optimum of extrusion for hydrophilic gels [13] (Fig. 2), and the technology of this gel production is economically unprofitable and may lead to an increase in the cost of the final product in the future.

In this regard, colloidal silicon dioxide (Aerosil®), which is a very light white highly dispersed, micronized powder with a particle size of up to 40 μm (mainly 10–30 μm), belonging to inorganic synthetic polymers, was chosen for further study as a gel-forming agent.

It contains siloxane Si-O-Si and silanol Si-OH functional groups that are unevenly distributed: there are surface groups that are free or connected by hydrogen bridges, which determine a high affinity for water and other polar liquids; and silanol groups inside the molecule, which can also be interconnected by hydrogen bridges [14].

As a result, a branched space structure is formed which participates in the processes of gelation when Aerosil® is dispersed in a liquid, due to the formation of a three-dimensional lattice from its aggregates, which externally manifests itself in the form of thickening. The less polar the liquid, the greater this effect. The gel will be transparent if the liquid refractive index (glycerol, liquid paraffin and fatty oils, Aesilum-5 polyethylsiloxane fluid, vinylin and polyethylene oxide 400) is close to the refractive index of

Таблица 1. Состав и органолептическая характеристика карбомерных гелей с Агсулар®
Table 1. Composition and organoleptic characteristics of carbomer gels with Agsular®

Код Code	Состав модельной композиции Composition	Внешний вид Appearance	Результат Result
КА1	Карбомер 0.5 / Carbomer 0.5 ТЭА 0.3 / TEA 0.3 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Вода очищенная до 100.0 Purified water up to 100.0	Прозрачный раствор светло-желтого цвета, добавление 0.103 ± 0.003 г ТЭА (до pH 5.5) загущения не вызывает A clear solution of light yellow color, the addition of 0.103 ± 0.003 g of TEA (up to pH 5.5) does not cause thickening	Неудовлетворительный Unsatisfactory
КА2	Карбомер 1.0 / Carbomer 1.0 ТЭА 0.6 / TEA 0.6 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Вода очищенная до 100.0 Purified water up to 100.0	Низковязкая прозрачная жидкость светло-желтого цвета, добавление 0.160 ± 0.006 г ТЭА (до pH 5.5) загущения не вызывает A low-viscosity transparent liquid of light yellow color, the addition of 0.160 ± 0.006 g of TEA (up to pH 5.5) does not cause thickening	Неудовлетворительный Unsatisfactory
КА3	Карбомер 2.0 / Carbomer 2.0 ТЭА 1.2 / TEA 1.2 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Вода очищенная до 100.0 Purified water up to 100.0	Вязкая прозрачная жидкость светло-желтого цвета, добавление 0.303 ± 0.003 г ТЭА (до pH 5.5) загущения не вызывает Viscous transparent liquid of light yellow color, the addition of 0.303 ± 0.003 g of TEA (up to pH 5.5) does not cause thickening	Неудовлетворительный Unsatisfactory
КА4	Карбомер 3.0 / Carbomer 3.0 ТЭА 1.8 / TEA 1.8 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Вода очищенная до 100.0 Purified water up to 100.0	Вязкий гель светло-желтого цвета с pH 5.413 ± 0.007 Viscous gel of light yellow color with a pH 5.413 ± 0.007	Удовлетворительный Satisfactory

Примечание. Значения выражены как среднее ± стандартное отклонение среднего; $n = 3$ ($p = 0.05$). ТЭА – триэтаноламин.
Note. The values are expressed as the mean ± standard deviation of the mean; $n = 3$ ($p = 0.05$). TEA – triethanolamine.

ный диоксид кремния (Аэросил®), представляющий собой очень легкий белый высокодисперсный, микронизированный порошок с размером частиц до 40 мкм (в основном 10–30 мкм), относящийся к неорганическим синтетическим полимерам.

Он содержит силоксановые Si-O-Si и силаноловые Si-OH функциональные группы, которые

Aerosil® (1.45). When Aerosil® is injected into these liquids in an amount of 8–16%, thixotropic gels are formed, having a soft plastic consistency, well applied and fixed on the skin, slowly releasing medicinal substances [15]. At the same time, the presence of Aerosil® in semisolid dosage forms for topical use, does not cause irritating and general toxic effects, and also disorders of metabolism in the skin [16].

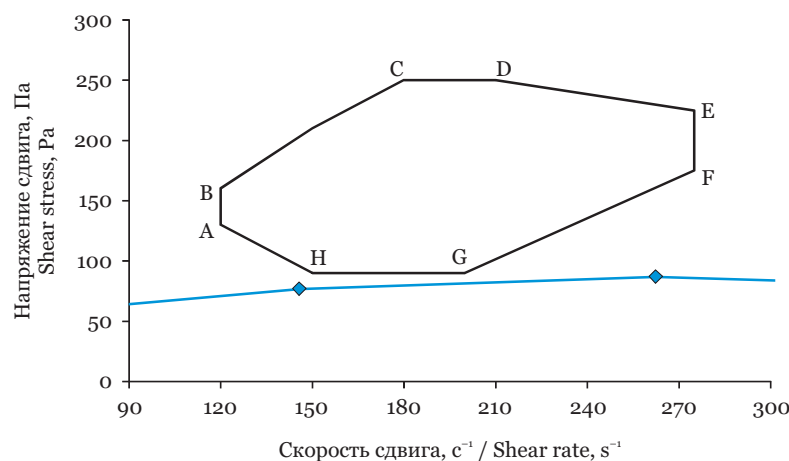


Рис. 2. Зависимость напряжения сдвига от скорости сдвига модельной композиции КА4 (гелеобразователь – Carbopol® EDT 2001 (3%)) при 20 °С; буквы А–Н – границы «технологического оптимума экструзии» для гидрофильных гелей

Fig. 2. The shear stress – shear rate dependence of the KA4 model composition (gelation agent is Carbopol® EDT 2001 (3%)) at 20 °C; letters A–H are the boundaries of the technological optimum of extrusion for hydrophilic gels

распределены неравномерно: различают поверхностные группы, свободные или соединенные водородными мостиками, определяющие высокое сродство к воде и другим полярным жидкостям, и силаноловые группы внутри молекулы, которые также могут соединяться между собой водородными мостиками [14].

В результате образуется разветвленная объемная структура, участвующая в процессах гелеобразования при диспергировании Аэросила® в жидкости за счет возникновения трехмерной решетки из его агрегатов, внешне проявляющаяся в виде загущения. Чем менее полярна жидкость, тем значительнее этот эффект. Гель будет прозрачным, если коэффициент преломления жидкости (глицерол, вазелиновое и жирные масла, полиэтилсилоксановая жидкость «Эсилон-5», винилин и полиэтиленоксид 400) близок к коэффициенту преломления Аэросила® (1.45). При введении Аэросила® в эти жидкости в количестве 8–16 % образуются тиксотропные гели, имеющие мягкую пластичную консистенцию, хорошо наносимые и фиксируемые на коже, замедленно высвобождающие лекарственные вещества [15]. При этом присутствие Аэросила® в мягких лекарственных формах при наружном применении не вызывает раздражающего и общетоксического действия, а также не нарушает кожный обмен [16].

Для получения экспериментальных фармацевтических композиций на основе Агсулар® был использован AEROSIL® 200 Pharma, являющийся гидрофильным высокодисперсным продуктом, легко диспергирующимся в жидкостях и высокоэффективным в качестве гелеобразующего агента [14].

Учитывая физико-химические свойства Агсулар®, для изготовления аэросилсодержащего геля целесообразно использование гидрофильной дисперсионной среды, состоящей из воды очищенной и глицерола – гидрофильного неводного растворителя. В фармацевтической практике применяют в основном 86–90% водные растворы глицерола с показателем преломления 1.4524–1.4584 [17], так как безводный (100%) глицерол очень гигроскопичен и обладает раздражающими свойствами [18], хотя и является пластификатором, уменьшающим высыхание геля и улучшающим его реологические свойства.

Растворы глицерола в концентрации 25 % и выше не подвергаются микробному обсеменению [19], а Аэросил® не является питательным веществом для микроорганизмов [14]. Совместное применение глицерола и Аэросила® снижает

To obtain experimental Agsular®-based pharmaceutical compositions, the AEROSIL® 200 Pharma was used, which is a hydrophilic highly dispersed product, easily dispersed in liquids and highly effective as a gel-forming agent [14].

Taking into account the physical and chemical properties of Agsular®, it is advisable to use a hydrophilic dispersion medium consisting of purified water and glycerol, a hydrophilic non-aqueous solvent, for the manufacture of an aerosil-containing gel. In pharmaceutical practice, 86–90% aqueous solutions of glycerol with a refractive index of 1.4524–1.4584 are mainly used [17], since anhydrous (100%) glycerol is very hygroscopic and has irritating properties [18], although it is a plasticizer that reduces gel drying and improves its rheological characteristics.

Glycerol solutions at a concentration of 25% and higher are not subjected to microbial contamination [19], and Aerosil® is not a nutrient for microorganisms [14]. The combined use of glycerol and Aerosil® reduces microbial contamination of gels, therefore, it is believed that no extra preservatives for dosage forms based on them, are required.

For experimental studies, model compositions with a glycerol concentration of 25% or higher and the maximum recommended concentration of Aerosil® (16%) (AGA1–AGA6) were obtained (Table 2).

As can be seen from the presented data, only the AGA 5 and AGA 6 model aerosil-containing compositions were found satisfactory according to organoleptic properties. As a result of the study of their structural and mechanical characteristics, it was found that only the rheological properties of the AGA6 sample meet the requirements of the technological rheological optimum of extrusion for hydrophilic gels [13] (Fig. 3), providing easy dosing during possible technological operations (filling tubes during packaging, squeezability of preparation from tubes, etc.), as well as the spreadability of the gel on the skin.

Therefore, further studies of microbiological purity and physicochemical properties were carried out for the AGA 6 model sample in order to determine storage stability (Table 3).

The model sample AGA6 is a dispersed gel system in which the aqueous glycerol solution Agsular® acts as a dispersion medium, and the dispersed phase is Aerosil®. As can be seen from the presented data, the high zeta potential (more than ± 30 mV) of the gel means that the dispersed system is electrically stabilized, i.e. resistant to aggregation [11]. During storage, the zeta potential of the AGA 6 model sample decreases by 32.4%, but its value remains above the

микробную контаминацию гелей, поэтому считается, что введение в лекарственные формы на их основе консервантов не требуется.

Для экспериментальных исследований были получены модельные композиции с концентрацией глицерина от 25 % и выше и максимально рекомендуемой концентрацией Аэросила® (16 %) (АГА1–АГА6) (табл. 2).

Как видно из представленных данных, только модельные аэросилсодержащие композиции АГА5 и АГА6 по органолептическим свойствам признаны удовлетворительными. В результате исследования их структурно-механических свойств было установлено, что только реологические свойства образца АГА6 удовлетворяют требованиями «технологического реологического оптимума экструзии» для гидрофильных гелей [13] (рис. 3), обеспечивая легкое дозирование при возможных технологических операциях (наполнение туб при фасовке, выдавливаемость из туб и т.д.), а также намазываемость геля на кожу.

Поэтому далее для модельного образца АГА6 были проведены исследования микробиологической чистоты и физико-химических свойств с

critical value (± 30 mV). Therefore, the developed gel is stable.

However, after 1 year storage, microflora growth is observed above the recommended parameters for this type of dosage form (the total count of aerobic bacteria, yeast and mold (in total) should not exceed 10^2 CFU/g) [9], which requires the introduction of a preservative in order to adjust the composition of the АГА6 model sample. To ensure the microbiological purity of the developed gel, Nipagin was chosen as a preservative, which is an antimicrobial agent of static action against a wide range of bacteria, yeast and mold fungi. Its standard concentration for use is up to 0.3%, while the activity of Nipagin increases at a pH < 7.

CONCLUSION

As a result of the experiments carried out, the optimal composition of the hydrophilic gel containing Agsular® (1.5%) as the active substance was substantiated. This is a water-aerosil-glycerol containing composition (the ratio of components 1:2:13 respectively) with the addition of Nipagin (0.1%). The technology of the developed gel has been tested in compliance with the conventional stages of gel

Таблица 2. Состав и характеристика аэросилсодержащих гелей с Агсулар®
Table 2. Composition and characteristics of aerosil-containing gels with Agsular®

Код Code	Состав модельной композиции Composition	Внешний вид Appearance	pH	Результат Result
АГА1 AGA1	Вода очищенная 63.8 / Purified water 63.8 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 30.0 / Glycerol (90%) 30.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Слегка вязкая суспензия белого цвета Slightly viscous suspension of white color	5.027 ± 0.009	Неудовлетво- рительный Unsatisfactory
АГА2 AGA2	Вода очищенная 52.2 / Purified water 52.2 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 40.0 / Glycerol (90%) 40.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Вязкая суспензия белого цвета Viscous suspension of white color	5.113 ± 0.003	Неудовлетво- рительный Unsatisfactory
АГА3 AGA3	Вода очищенная 40.5 / Purified water 40.5 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 50.0 / Glycerol (90%) 50.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Густая масса белого цвета Viscous mass of white color	5.210 ± 0.006	Неудовлетво- рительный Unsatisfactory
АГА4 AGA4	Вода очищенная 29.0 / Purified water 29.0 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 60.0 / Glycerol (90%) 60.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Опалесцирующая густая масса светло-желтого цвета Opalescent viscous mass of light yellow color	5.260 ± 0.006	Неудовлетво- рительный Unsatisfactory
АГА5 AGA5	Вода очищенная 17.5 / Purified water 17.5 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 70.0 / Glycerol (90%) 70.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Опалесцирующий гель светло-желтого цвета Opalescent gel of light yellow color	5.393 ± 0.009	Удовлетвори- тельный Satisfactory
АГА6 AGA6	Вода очищенная 6.0 / Purified water 6.0 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 80.0 / Glycerol (90%) 80.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Прозрачный гель светло- желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.443 ± 0.003	Удовлетвори- тельный Satisfactory

Примечание. Значения выражены как среднее $\pm$ стандартное отклонение среднего; $n = 3$ ($p = 0.05$).
Note. The values are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of the mean; $n = 3$ ($p = 0.05$).

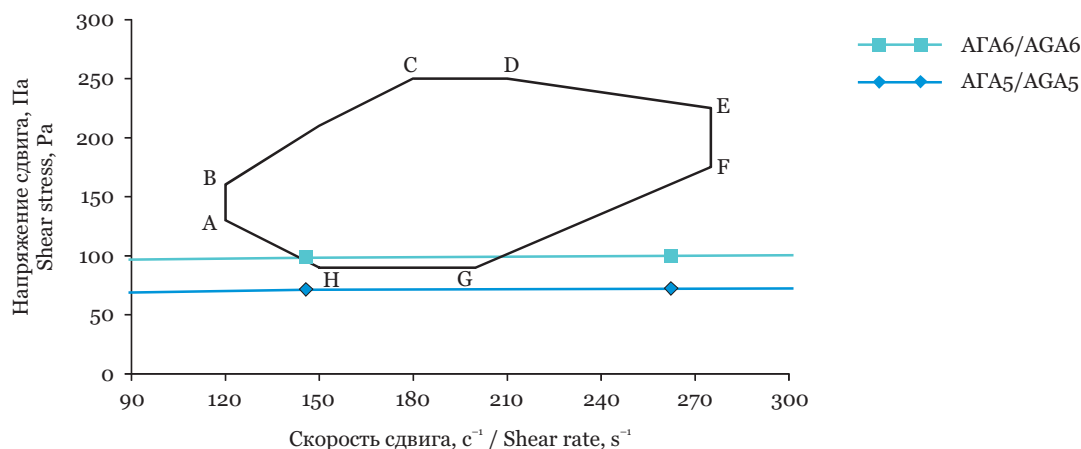


Рис. 3. Зависимость напряжения сдвига от скорости сдвига модельных композиций АГА5 и АГА 6 (гелеобразователь – AEROSIL® 200 Pharma) при 20 °С; буквы А–Н – границы «технологического оптимума экструзии» для гидрофильных гелей

Fig. 3. The shear stress – shear rate dependence of the AGA5 and AGA 6 model compositions (gel-forming agent is AEROSIL® 200 Pharma) at 20°C; the letters A–H are the boundaries of the technological optimum of extrusion for hydrophilic gels

целью определения стабильности при хранении (табл. 3).

Модельный образец АГА6 представляет собой дисперсную систему – гель, в которой в качестве дисперсной среды выступает водно-глицероловый раствор Агсулар®, а дисперсной фазой является Аэросил®. Как видно из представленных данных,

production. In the technological process, the following characteristics of the target product were monitored: appearance (description), authenticity, pH, viscosity, zeta potential, microbiological purity and microbial enumeration test. The obtained data formed the basis for the development of product's specification and laboratory regulations for the pro-

Таблица 3. Исследование стабильности модельного образца АГА6 при хранении в естественных условиях
Table 3. Study of the stability of the AGA 6 model sample in real-time storage

Срок хранения Shelf-life	Внешний вид Appearance	pH	Дзета-потенциал, мВ Zeta potential, mV	Микробиологическая чистота, КОЕ/г Microbiological purity, CFU/g
До хранения Before storage	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.420 ± 0.006	–565.00 ± 29.65	25.00 ± 2.89
3 мес 3 months	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.417 ± 0.003	–520.00 ± 10.82	36.00 ± 1.15
6 мес 6 months	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.407 ± 0.007	–469.00 ± 18.82	50.00 ± 2.89
9 мес 9 months	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.403 ± 0.003	–408.00 ± 20.23	75.00 ± 8.66
12 мес 12 months	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.400 ± 0.006	–382.00 ± 16.52	152.00 ± 4.16

Примечание. Значения выражены как среднее ± стандартное отклонение среднего; $n = 3$ ($p = 0.05$).
Note. The values are expressed as the mean ± standard deviation of the mean; $n = 3$ ($p = 0.05$).

высокий дзета-потенциал (более ± 30 мВ) геля означает, что дисперсная система электрически стабилизирована, т.е. устойчива к агрегации [11]. В процессе хранения дзета-потенциал модельного образца АГА6 снижается на 32.4 %, но его значение при этом сохраняется выше критического (± 30 мВ). Следовательно, разработанный гель стабилен.

Однако после 1 года хранения наблюдается рост микрофлоры выше рекомендуемых требований для данного вида лекарственной формы (общее количество аэробных бактерий, дрожжей и плесени (суммарно) не должно превышать 10^2 КОЕ/г) [9], что требует введения консерванта с целью корректировки состава модельного образца АГА6. Для обеспечения микробиологической чистоты разработанного геля в качестве консерванта был выбран нипагин, являющийся противомикробным средством статического действия по отношению к широкому спектру бактерий, дрожжей и плесневых грибов. Его стандартная концентрация для использования составляет до 0.3 %, при этом активность нипагина возрастает при уровне pH < 7.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов обоснован оптимальный состав гидрофильного геля, содержащий в качестве действующего вещества Агсулар® (1.5%). Это водно-аэроил-глицеролсодержащая композиция (в соотношении компонентов 1:2:13 соответственно) с добавлением нипагина (0.1%). Технология разработанного геля апробирована с соблюдением традиционных этапов получения гелей. В технологическом процессе контролировали следующие характеристики целевого продукта: внешний вид (описание), подлинность, pH, вязкость, дзета-потенциал, микробиологическую чистоту и количественное определение. Полученные данные легли в основу разработки нормативной документации и лабораторного регламента для производства лекарственной формы «Агсулар® гель 1.5%», который является перспективным средством профилактики и лечения хронической венозной недостаточности.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Т.В. Романко, Л.А. Беловежец и В.О. Страхову за помощь в выполнении данной работы.

Финансирование работы. Работа выполнена при финансовой поддержке программы

duction of the dosage form Agsular® gel 1.5%, which is a promising pharmaceutical for prevention and treatment of chronic venous insufficiency.

Acknowledgement. The authors are grateful to T.V. Romanko, L.A. Belovezhets and V.O. Strakhov for their assistance in carrying out this work.

Funding. The research was carried out with the financial support of the fundamental research Program of the Presidium of the Russian Academy of Sciences “Fundamental Science for Medicine” (2013–2014) No. 5: Project No. 5.40 “Development of a reference medicinal product for the prevention and treatment of chronic venous insufficiency” and Program V.48 “Fundamental physical and chemical studies of the mechanisms of physiological processes and the creation on their basis of pharmacological substances and dosage forms for the treatment and prevention of socially significant diseases” (2013–2020): Project V.48.1.2 “Search for new biologically active substances based on the biomass of coniferous species of Siberia and the Far East, screening of the biological activity of promising compounds. Development of technologies for obtaining natural substances and determination of their practical significance.”

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

фундаментальных исследований президиума РАН № 5 «Фундаментальные науки – медицине» (2013–2014 гг.): Проект № 5.40 «Разработка оригинального лекарственного препарата для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности» и программы V.48 «Фундаментальные физико-химические исследования механизмов физиологических процессов и создание на их основе фармакологических веществ и лекарственных форм для лечения и профилактики социально значимых заболеваний» (2013–2020 гг.): Проект V.48.1.2 «Поиск новых биологически активных веществ на основе биомассы хвойных пород Сибири и Дальнего Востока, скрининг биологической активности перспективных соединений. Разработка технологий получения природных субстанций и определение их практической значимости».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васюков С.Е., Ермолаев А.С., Фрумин Л.Е., Донецкий И.А. Способ получения гепарина. Патент РФ 2042356. Публикация: 27.08.1995.
2. Иванкин А.Н. Биологически активные вещества из животной ткани и микроорганизмов. Методы получения и структурно-функциональные взаимосвязи: автореф. дис. ... д-ра хим. наук. М., 1998. 40 с.
3. Ролик И.С. Основы клинической фармакологии органолепепаратов. Руководство. М.: РегБиоМед, 2004. 336 с.
4. Костыро Я.А., Станкевич В.К., Трофимов Б.А. Способ получения сульфатированных производных арабиногалактана, обладающих антикоагулянтной и гиполипидемической активностью. Патент РФ 2532915. Публикация: 20.11.2014.
5. Kostyroy Ya.A., Stankevich V.K. New approach to the synthesis of an active substance of Agsular[®] pharmaceutical for the prevention and treatment of atherosclerosis // Russ. Chem. Bull. 2015;64(7):1576–1580. doi: 10.1007/s11172-015-1044-x.
6. Костыро Я.А., Колбасов С.Е. Исследование безопасности субстанции Агсулар[®] // Эксперимент. и клин. фармакология. 2017;80(S6):17.
7. Костыро Я.А., Костыро В.В. Исследование фармакологической активности субстанции Агсулар[®] // Эксперимент. и клин. фармакология. 2018;81(S):124. doi: 10.30906/0869-2092-2018-81-5s-1-306.
8. Государственный реестр лекарственных средств. URL: grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx (дата обращения: 26.11.2021).
9. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М., 2018. Т. 1–4. URL: femb.ru (дата обращения: 26.11.2021).
10. Carbopol[®] Polymer Products. URL: <http://www.lubrizol.com/Health/Pharmaceuticals/Excipients/Carbopol-Polymer-Products> (дата обращения: 26.11.2021).
11. ГОСТ Р 8.887-2015. Потенциал электрокинетический (дзета-потенциал) частиц в коллоидных системах. 2016. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200123490> (дата обращения: 26.11.2021).
12. Ali S.M., Yosipovitch G. Skin pH: from basic science to basic skin care // Acta Derm. Venereol. 2013;93(3):261–267. doi: 10.2340/00015555-1531.
13. Аркуша А.А. Исследование структурно-механических свойств мазей с целью определения оптимума консистенции: автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук. Харьков, 1982. 23 с.
14. Алексеев К.В., Грицкова И.А., Кедик С.А. Полимеры для фармацевтической технологии: учеб. пособие. М.: Ин-т фармацевт. технологий, 2011. 511 с.
15. Марченко Л.Г., Русак А.В., Смахова И.Е. Технология мягких лекарственных форм: учеб. пособие. СПб.: СпецЛит, 2004. 174 с.
16. Воронков М.Г., Зелчан Г.И., Лукевич Э.Я. Кремний и жизнь. Биохимия, токсикология и фармакология соединений кремния. 2-е изд. Рига: Зинатне, 1978. 587 с.
17. Иоффе Б.В. Рефрактометрические методы химии. 3-е изд. Л.: Химия, 1983. 352 с.

REFERENCES

1. Vasjukov S.E., Ermolaev A.S., Frumin L.E., Donetskij I.A. Method of heparin preparing. Patent RF No. 2042356. Date of publication: 27.08.1995. (In Russ.)
2. Ivankin A.N. (1998). *Biologically active substances from animal tissue and microorganisms. Methods of obtaining and structural and functional relationships*. Dr. Sci. (Chem.) Thesis: abstract. Moscow. 40 p. (In Russ.)
3. Rolik I.S. (2004). *Basics of the Clinical Pharmacology of Organopreparations. Guideline*. Moscow: Reg-BioMed. 336 p. (In Russ.)
4. Kostyroy J.A., Stankevich V.K., Trofimov B.A. Method of obtaining sulphated derivatives of arabinogalactan, possessing anticoagulating and hypolipidemic activity. Patent RF No. 2532915. Date of publication: 20.11.2014. (In Russ.)
5. Kostyroy Ya.A., Stankevich V.K. New approach to the synthesis of an active substance of Agsular[®] pharmaceutical for the prevention and treatment of atherosclerosis. *Russ. Chem. Bull.* 2015;64(7):1576–1580. doi: 10.1007/s11172-015-1044-x.
6. Kostyroy Ya.A., Kolbasov S.E. The study of safety of an active substance of Agsular[®]. *Experimental and Clin. Pharmacology*. 2017;80(S6):17. (In Russ.)
7. Kostyroy Ya.A., Kostyroy V.V. The study of pharmacological activity of an active substance of Agsular[®]. *Experiment and Clin. Pharmacology*. 2018;81(S):124. doi: 10.30906/0869-2092-2018-81-5s-1-306. (In Russ.)
8. State Register of Medicines. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> (accessed 26.11.2021).
9. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.* (2018). URL: <http://femb.ru> (accessed 26.11.2021).
10. Carbopol[®] Polymer Products. URL: <http://www.lubrizol.com/Health/Pharmaceuticals/Excipients/Carbopol-Polymer-Products> (accessed 26.11.2021).
11. GOST R 8.887-2015. Electrokinetic potential (zeta-potential) of particles in colloidal systems. 2016. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200123490> (accessed 26.11.2021).
12. Ali S.M., Yosipovitch G. Skin pH: from basic science to basic skin care. *Acta Derm. Venereol.* 2013;93(3):261–267. doi: 10.2340/00015555-1531.
13. Arkusha A.A. (1982). *Study of the structural and mechanical properties of ointments in order to determine the optimum consistency*. Cand. Sci. (Pharmaceut.) Thesis: abstract. Kharkov. 23 p. (In Russ.)
14. Alekseev K.V., Gritskova I.A., Kedik S.A. (2011). *Polymers for Pharmaceutical Technology: Tutorial*. Moscow. 511 p. (In Russ.)
15. Marchenko L.G., Rusak A.V., Smekhova I.E. (2004). *Technology of Semisolid Dosage Forms: Tutorial*. St. Petersburg: SpetsLit. 174 p. (In Russ.)
16. Voronkov M.G., Zelchan G.I., Lukevits E.Ya. (1978). *Silicon and Life: Biochemistry, Toxicology and Pharmacology of Silicon Compounds. 2nd ed.* Riga: Zinatne. 587 p. (In Russ.)
17. Ioffe B.V. (1983). *Refractometric Methods of Chemistry. 3rd ed.* Leningrad: Chemistry. 352 p. (In Russ.)
18. Puchkova T.V., Rodyunin A.A., Bogdanova E.D. (2006). *Encyclopedia of Ingredients for Cosmetics*. Moscow: School of Cosmetic Chemists. 336 p. (In Russ.)

18. Пучкова Т.В., Родюнин А.А., Богданова Е.Д. Энциклопедия ингредиентов для косметики. М.: Школа косметических химиков, 2006. 336 с.
19. Полный медицинский справочник фармацевта. М.: Эксмо, 2013. 784 с.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Костыров Виталий Викторович – соискатель группы фармацевтической разработки ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия. ORCID: 0000-0002-9924-7710.

Костырова Яна Антоновна – канд. фармацевт. наук, старший научный сотрудник группы фармацевтической разработки ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия. ORCID: 0000-0003-2660-4796.

19. *Complete Medical Handbook of Pharmacist* (2013). Moscow: Eksmo. 784 p. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Vitaly V. Kostyrov – Applicant, Group of Pharmaceutical Development, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Irkutsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9924-7710.

Yana A. Kostyrov – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Senior Researcher, Group of Pharmaceutical Development, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Irkutsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2660-4796.

