

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-59-68>
УДК 615.322:615.454.1



Оригинальная статья / Research article

Методология разработки топической трансдермальной системы доставки фукоидана

Е. Д. Облущинская¹, А. Н. Шиков^{1, 2}✉, О. Н. Пожарицкая¹

¹ ФГУН «Мурманский морской биологический институт Российской академии наук» (ММБИ РАН), 183010, Россия, г. Мурманск, ул. Владимирская, д. 17

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России), 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

✉ Контактное лицо: Шиков Александр Николаевич. E-mail: spb.pharmacy@gmail.com

ORCID: Е. Д. Облущинская – <https://orcid.org/0000-0003-4456-656X>; А. Н. Шиков – <https://orcid.org/0000-0003-4351-0695>; О. Н. Пожарицкая – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>.

Статья поступила: 27.06.2022

Статья принята в печать: 12.01.2023

Статья опубликована: 24.02.2023

Резюме

Введение. Полисахариды морского происхождения являются многообещающими кандидатами для создания инновационных лекарственных средств. Одним из таких соединений является полисахарид фукоидан из бурых водорослей, обладающий антикоагулянтной и противовоспалительной активностью. Создание топических трансдермальных препаратов для лечения хронических заболеваний вен представляет особый интерес, т. к. при адресной доставке действующее вещество в высокой концентрации попадает непосредственно на участок, где требуется воздействие лекарственного средства, при этом риск развития нежелательных побочных эффектов минимален.

Цель. Экспериментально-теоретическое обоснование методологической схемы разработки трансдермальной системы доставки морского полисахарида фукоидана в рамках подхода Quality by Design (QbD) для местной терапии.

Материалы и методы. Использовали субстанцию Фукоидан, выделенную по оригинальной технологии ММБИ РАН из слоевищ фукуса пузырчатого *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря. В работе использовали вспомогательные вещества, разрешенные к медицинскому применению. Выбор состава вспомогательных веществ трансдермальной системы доставки (ТСД) проводили по плану греко-латинского квадрата 4 × 4 с повторными наблюдениями. В качестве физико-химических показателей оценивали pH водных извлечений ТСД, коллоидную и термическую стабильность. Структурно-механические свойства оптимального состава ТСД определяли на ротационном вискозиметре. Скорость растворения *in vitro* оценивали с использованием метода «мешалка над диском» при температуре 32 ± 0.5 °C.

Результаты и обсуждение. Проведена разработка состава и технологии топической ТСД фукоидана с применением концепции QbD. В результате разработки в качестве топической формы с фукоиданом выбраны состав и технология ТСД фукоидана с содержанием действующего вещества 15 %, обладающий термо- и коллоидной стабильностью, имеющий водородный показатель, приближенный к pH кожи человека. В качестве гелевой основы использован полоксамер 407, в качестве гидрофобной фазы – масло оливковое. Установлено, что отношение полоксамера 407 к водной фазе должно быть не менее 0.1 и не более 0.37; отношение воды к водной фазе должно быть не менее 0.56 и не более 0.69; и полиоксил 40 гидрогенизированное касторовое масло к масляной фазе должно быть не менее 0.34. Определено, что 9 % полоксамера 407 обеспечивает необходимые структурно-механические свойства ТСД. Установлено, что разработанная ТСД фукоидана с полоксамером 407 относится к неньютоновским типам течения с пластическими свойствами и имеет тиксотропность.

Заключение. Проведенный комплекс исследований позволил экспериментально-теоретически обосновать методологическую схему разработки трансдермальной системы доставки морского полисахарида фукоидана в рамках подхода QbD. Методологическая схема учитывает физико-химические и технологические особенности фукоидана и позволяет создать высококачественную ТСД, обеспечивающую стабильность и полное высвобождение действующего вещества.

Ключевые слова: трансдермальная система доставки, фукоидан, качество через разработку, стабильность, многофакторный эксперимент, реологические свойства, профиль высвобождения

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. Д. Облущинская осуществила выделение образца и его анализ, обработку данных. А. Н. Шиков произвел дизайн исследования, получение данных. О. Н. Пожарицкая осуществила анализ и интерпретацию данных, обзор публикаций. Все авторы участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания Мурманскому морскому биологическому институту РАН (№ Гос. регистрации 21091600104-7).

Для цитирования: Облущинская Е. Д., Шиков А. Н., Пожарицкая О. Н. Методология разработки топической трансдермальной системы доставки фукоидана. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(1):59–68. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-59-68>

Methodology of the Development of a Topical Transdermal Fucoidan Delivery System

Ekaterina D. Obluchinskaya¹, Alexander N. Shikov^{1, 2}✉, Olga N. Pozharitskaya¹

¹ Murmansk Marine Biological Institute of the RAS, 17, Vladimirskaia str., Murmansk, 183010, Russia

² Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

✉ Corresponding author: Alexander N. Shikov. E-mail: spb.pharmacy@gmail.com

© Облущинская Е. Д., Шиков А. Н., Пожарицкая О. Н., 2023

© Obluchinskaya E. D., Shikov A. N., Pozharitskaya O. N., 2023

ORCID: Ekaterina D. Obluchinskaya – <https://orcid.org/0000-0003-4456-656X>; Alexander N. Shikov – <https://orcid.org/0000-0003-4351-0695>;
Olga N. Pozharitskaya – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>.

Received: 27.06.2022 Revised: 12.01.2023 Published: 24.02.2023

Abstract

Introduction. Marine-derived polysaccharides are promising candidates for the development of innovative drugs. One of such compounds is the polysaccharide fucoidan from brown seaweeds, which shows anticoagulant and anti-inflammatory activity. The development of topical transdermal formulation for the treatment of chronic venous diseases is of particular interest, because with targeted delivery, the active compound in high concentration comes directly to the site where the drug is required, while the risk of side effects is minimal.

Aim. Experimental and theoretical justification of the methodological scheme for the development of a transdermal delivery system with fucoidan for local therapy using the Quality by Design (QbD) approach.

Materials and methods. Fucoidan was isolated from the thalli of *Fucus vesiculosus* L. from the Barents Sea according to the original technology of the MMBI RAS. All excipients were approved for medical use. The experiments for rational selection of the excipients for the transdermal delivery system (TSD) were planned using the Greek-Latin square 4 × 4 with repeated observations. The colloidal and thermal stability and pH were evaluated as physicochemical parameters of TSD. Structural and mechanical properties of TSD were determined with rotational viscometer. The dissolution rate of fucoidan *in vitro* was evaluated using the paddle-over-disk method at a temperature of 32 ± 0.5 °C.

Results and discussion. The composition and technology of topical TSD with fucoidan were developed using the QbD concept. The composition and technology of topical TSD with 15 % of fucoidan as active ingredient were developed. TSD has thermo- and colloidal stability, and has a pH value close to the pH of human skin. Poloxamer 407 was used as a gel base; olive oil was used as a hydrophobic phase. It was found that the ratio of poloxamer 407 to the aqueous phase should be no less than 0.1 and no more than 0.37; the ratio of water to the aqueous phase should not be less than 0.56 and not more than 0.69; and the ratio of polyoxyol 40 hydrogenated castor oil to the oil phase must be at least 0.34. It was found that 9 % poloxamer 407 provides the necessary structural and mechanical properties of TSD. It has been established that the developed TSD of fucoidan with poloxamer 407 belongs to non-Newtonian flow types with plastic properties and has thixotropy.

Conclusion. The complex of studies based on QbD approach led to the experimental and theoretical justification of the methodological scheme for the development of a transdermal delivery system with marine polysaccharide fucoidan. The methodological scheme takes into account the physicochemical and technological features of fucoidan and allows you to create a high-quality TSD that ensures stability and complete release of the active substance.

Keywords: transdermal delivery system, fucoidan, quality by design, stability multifactorial experiment design, rheological properties, release profile

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Ekaterina D. Obluchinskaya carried out the extraction of the sample and its analysis, data processing. Alexander N. Shikov produced the study design, data acquisition. Olga N. Pozharitskaya carried out the analysis and interpretation of the data, review of publications. All authors participated in writing the text of the article and discussing the results.

Funding. This study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the Government Assignment to the Murmansk Marine Biological Institute Russian Academy of Sciences (State Reg. No. 121091600104-7).

For citation: Obluchinskaya E. D., Shikov A. N., Pozharitskaya O. N. Methodology of the development of a topical transdermal fucoidan delivery system. *Drug development & registration*. 2023;12(1):59–68. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-59-68>

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия в медицине отмечается повышенный интерес к применению водорослей в связи с высоким содержанием в них биологически активных веществ, среди которых особое внимание привлекает фукус пузырчатый (*Fucus vesiculosus* L.). Отличительной особенностью фукуса пузырчатого является сульфатированный полисахарид фукоидан, встречающийся только в бурых водорослях¹.

Проведенные исследования показали, что фукоиданы снижают выраженность окислительного стресса и воспалительной реакции базовых патофизиологических процессов, лежащих в основе большого коли-

чества заболеваний. Установлена противовирусная, иммунорегулирующая, противоопухолевая, антикоагулянтная, и другие активности фукоиданов [1,2]. Так, в исследованиях *in vitro* показано, что фукоиданы, полученные из разных видов бурых водорослей, проявляют гепариноподобные антикоагулянтные свойства посредством активации плазматического антитромбина III и ингибирования тромбина, кофактора II гепарина и фактора коагуляции Ха [3]. В работах *in vivo* также были продемонстрированы результаты изучения антикоагулянтной активности фукоидана [3].

Существующие лекарственные препараты, применяемые для лечения заболеваний, связанных с нарушением системы свертывания крови, недостаточно эффективны и безопасны. Для лечения тромбозов и тромбозов широко применяют прямые антикоагулянты (гепарин или низкомолекулярный гепарин –

¹ EMA/661584/2016. Bladderwrack. *Fucus vesiculosus* L., thallus. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/fucus>. Accessed: 11.10.2022.

например, фраксипарин). Известно, что гепарин имеет противопоказания и побочные действия, в частности в ряде случаев наблюдаются аллергические реакции, остеопороз и тромбоцитопения [4].

Исследования фукоидана, выделенного из фукуса пузырчатого Баренцева моря показали, что он влияет на формирование протромбиназного комплекса за счет блокирующего воздействия на «внутренний» путь коагуляционного гемостаза [5] и не обладает токсичными свойствами [6].

Фармакотерапия хронических заболеваний вен основана, прежде всего, на пероральной и парентеральной терапии. Однако применение адресной доставки действующих веществ представляет особый интерес, так как при топическом (местном) нанесении действующее вещество в высокой концентрации попадает непосредственно на участок, где требуется воздействие лекарственного средства, при этом риск развития нежелательных побочных эффектов минимален. Трансдермальные системы доставки (ТСД) могут эффективно применяться для действующих веществ с большой молекулярной массой, в частности полисахаридов [7, 8].

Современные требования при разработке новых лекарственных препаратов в рамках фармацевтической системы качества применяют принцип системного подхода – качество через разработку (Quality by Design, QbD)¹. Целью QbD в фармации является лучшее понимание рецептуры и переменных процесса, а также разработка лекарственных препаратов, наилучшим образом соответствующих их назначению [9]. Подход QbD при фармацевтической разработке был введен регулирующими органами в области фармации для создания основы для надежного и эффективного препарата. Использование данного подхода выдвигает на первое место применение методов математического планирования эксперимента.

Целью данной работы являлось экспериментально-теоретическое обоснование методологической схемы разработки трансдермальной системы доставки морского полисахарида фукоидана в рамках подхода Quality by Design для местной терапии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали субстанцию «Фукоидан», выделенного в ММБИ РАН по запатентованной технологии из слоевищ фукуса пузырчатого (*Fucus vesiculosus* L.) Баренцева моря [10]. Фукоидан содержал 79,5 % нейтральных углеводов, основным из которых является фукоза (73,5 мол.%).

В качестве вспомогательных веществ использовали: полоксамер 407 (Kolliphor® P 407), полиоксил 40

гидрогенизированное касторовое масло (полиоксил 40 ГKM) (Kolliphor® RH 40), полиэтиленгликоль-400 (ПЭГ-400) (Kollisol® PEG-400) (BASF, Германия), диэтиленгликоль монометиловый эфир (ДЭМЭ) (Transcutol® P, Gattefossé, Франция), оливковое масло сорта экстра вирджин (Sovena Group, Португалия), метилпарагидроксibenзоат (нипагин) и пропилпарагидроксibenзоат (нипазол) (ООО «Экохим-Инновации», Россия). Для количественного анализа использовали стандартные образцы: фукозу (Sigma-Aldrich, Германия), кислоту серную концентрированную и L-цистеина гидрохлорид (АО «БЕКТОН», Россия).

Приготовление образцов

Составы ТСД, содержащие фукоидан, готовили с использованием оливкового масла и дополнительных модифицирующих наполнителей различной природы (таблица 1). Водную и масляную фазы готовили раздельно. Фукоидан, полоксамер 407, нипагин и нипазол растворяли в воде. Липофильные компоненты (полиоксил 40 ГKM, ПЭГ-400, ДЭМЭ) растворяли в оливковом масле. Обе фазы смешивали при комнатной температуре при перемешивании.

Исследование влияния свойств вспомогательных веществ на технологические свойства проводили с применением плана греко-латинского квадрата 4 × 4 с повторными наблюдениями (таблица 1). В качестве физико-химических показателей оценивали коллоидную и термическую стабильность (ГОСТ 29188.3-91 «Изделия косметические. Методы определения стабильности эмульсии»), pH мази (ОФС.1.2.1.0004.15 «Ионометрия»).

Оценку скорости высвобождения *in vitro* проводили с использованием метода «мешалка над диском» с использованием тестера для проверки растворимости DT 600 (ERWEKA GmbH, Германия) при температуре 32 ± 0,5 °C [11], с использованием воды в качестве среды растворения. По истечению заданных промежутков времени (5, 15, 30, 45, 60, 120, 180 мин) отбирали пробы по 2 мл и фильтровали через фильтр-насадки Phenex PTFE с диаметром пор 0,45 мкм (Phenomenex, США). Объем среды растворения восполняли водой. Анализ содержания фукоидана в среде растворения проводили предварительно валидированным методом спектрофотометрии на UV-1700 mini (Shimadzu, Япония), основанном на определении продуктов реакции фукозы с L-цистеином [12]. Для интерпретации процесса растворения фукоидана использовали: уравнение Higuchi, уравнение кинетики нулевого и первого порядка [11].

Изучение структурно-механических характеристик проводили с использованием ротационного вискозиметра Rheotest RV 2.1 (RHEOTEST Medingen GmbH, Германия) и цилиндрического измерительного устройства (цилиндр/стакан Н/Н) для образцов с высокой вязкостью. Образцы массой 15 г помещали в измерительный резервуар и термостатировали 15 мин до достижения заданной температуры. Измерение

¹ ICH guideline Q8 (R2) on pharmaceutical development Step 5. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q8-r2-pharmaceutical-development>. Accessed: 11.10.2022.

проводили при температуре 32 °С (температура кожного покрова голени человека). Измерения начинали с низких значений скоростей сдвига, постепенно повышая последние, регистрируя показания прибора на каждой из 12 ступеней. После достижения максимальной величины касательного напряжения последовательно уменьшали скорость вращения цилиндра [13]. Для оценки типа течения системы и выявления наличия тиксотропных свойств строили графики зависимости средних напряжения сдвига и градиента приложенной скорости, по которым судили о типе течения системы и о наличии тиксотропных свойств.

Свойства получаемых составов ТСД фукоидана оценивали по коллоидной и термической стабильности: 1 – образец расслоился в течение 24 часов; 2 – образец расслоился спустя 1–50 суток; 3 – образец стабилен при хранении.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием программ STATGRAPHICS Centurion XV (StatPoint Technologies, Inc., США) и Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе разработки, согласно концепции QbD, должен быть определен профиль целевого качества препарата на основе предварительных знаний. Обобщение литературных и собственных данных позволило сформулировать требования к топическим препаратам, содержащим фукоидан, для лечения заболеваний, связанных с нарушением системы свертывания крови.

Фукоидан, выделенный из *F. vesiculosus*, обладает гепариноподобным и противовоспалительным действием [5] и топический препарат ТСД фукоидана может быть рекомендован для профилактики и лечения тромбозов поверхностных вен. Подобные показания к применению подразумевают, что требуется разработка ТСД глубокого (проникающего/резорбтивного) действия, который обеспечил бы всасывание действующего вещества в глубокие слои кожи. В составе подобных топических препаратов, как правило, присутствуют гидрофильные компоненты, гидрофобные компоненты и поверхностно-активные вещества, так как известно, что эмульсионные основы повышают всасывание лекарственных веществ, обеспечивают мягкость и эластичность кожи. Таким образом, для фукоидана представляется оптимальной разработка ТСД на эмульсионной основе [7].

Фукоидан представляет собой субстанцию, хорошо растворимую в воде и нерастворимую в органических растворителях. Учитывая это свойство, введение субстанции в состав ТСД в виде раствора в воде представляется наиболее рациональным.

На терапевтический эффект топических препаратов большое влияние оказывает характер основ, которые отличаются большим разнообразием и способны оказывать существенное влияние на высвобождение действующих веществ. Это обуславлива-

ется разнообразием физико-химических свойств как действующих, так и вспомогательных веществ, используемых при разработке ТСД композиции [14].

Содержание фукоидана (15 %) в готовой форме выбрали на основании ранее проведенной работы [15]. В качестве гидрофобной фазы для ТСД выбрали масло оливковое, которое легко проникает через эпидермис кожи, обеспечивая при этом хорошую всасываемость лекарственных веществ [16]. Известно, что фукоидан не образует устойчивых гелей при смешивании с водой. Поэтому требуется добавление других структурообразующих компонентов [17]. В качестве возможных основ предварительно были выбраны и исследованы: гидроксипропилцеллюлоза, карбопол, синтетический блоксополимер этиленоксида и пропиленоксида (полосамер 407), ланолин, моностеарат глицерина, твердый жир (смесь моно-, ди- и триглицеридов) и этоксилированный цетилстеариловый спирт. В ходе предварительных экспериментов было установлено, что использование в составе основы карбопола и гидроксипропилцеллюлозы не позволяют получить однородный гель при условии содержания в нем 15 % субстанции фукоидана. Введение в состав ланолина, этоксилированного цетилстеарилового спирта и твердого жира приводило к образованию плотной структуры, не обеспечивающей биодоступность фукоидана. В качестве гелеобразующего компонента выбрали полосамер 407 [18], добавление которого к природным полисахаридам альгинату [19] и гиалуроновой кислоте [20] улучшало реологические свойства гелевых композиций. Полосамер 407 имеет самую низкую концентрацию гелеобразования и самую простую фазу поведения среди полосамеров [21]. Введение гиалуроновой кислоты в состав гидрогелей полосамера 407 не изменяло температуру мицеллообразования и стабилизировало реологические свойства гидрогелей, не оказывая влияния на термообратимые свойства полосамера [20]. Результаты реологических, калориметрических анализов и высвобождения *in vitro* показали, что введение альгината в состав органогеля на основе олеиновой кислоты и полосамера 407 позволяет модулировать высвобождение действующего вещества [19]. Для стабилизации эмульсии использовали полиоксил 40 ГМ, неионогенный эмульгатор, стабилизирующий эмульсии типа масло в воде, и солюбилизатор, способствующий проникновению веществ через роговой слой кожи [22]. Для предотвращения трансэпидермальной потери воды, а также для обеспечения увлажнения кожи, смазки и улучшения проникновения действующих веществ в качестве вспомогательных веществ применяют эмолен-ты [23], среди которых часто используют ПЭГ-400 [24]. Пассивная диффузия лекарств играет основную роль в трансдермальной доставке лекарств. Ее можно усилить, увеличив концентрацию лекарственного средства в препарате или увеличив проницаемость кожи. С этой целью в их состав включают компоненты, обес-

печивающие проникновение действующих веществ через кожу: активаторы всасывания [14]. Активаторы всасывания обратимо модифицируют структуру рогового слоя и, как следствие, ослабляют его барьерную функцию [25]. В связи с гидрофильными свойствами фукоидана активаторы всасывания были выбраны из группы гидрофильных неионогенных ПАВ, растворимых или смешивающихся с водой. ДЭМЭ привлекателен в качестве усилителя проникновения из-за отсутствия токсичности, биосовместимости с кожей, смешиваемости с полярными и неполярными растворителями и оптимальных солюбилизирующих свойств для некоторых лекарств [26]. Для предотвращения микробной контаминации использовали синергическую смесь нипагина с нипазолом [14].

На втором (исследовательском) этапе, следуя концепции QbD, осуществляли оптимизацию качественного и количественного состава композиции, разработку рациональной технологии, определение показателей качества. Определение структурной вязкости, тиксотропности, механической стабильности на данном этапе позволяет объективно оценивать качество разрабатываемого препарата. В соответствии с планом эксперимента приготовили 16 составов ТСД фукоидана (таблица 1). После чего образцы залили на хранение в прохладном месте (согласно ОФС.1.1.0010.15 «Хранение лекарственных средств»).

За стабильностью образцов наблюдали в течение 3 месяцев.

Шесть образцов после хранения в течение 90 суток имели удовлетворительный внешний вид и представляли собой однородные композиции, мягкой консистенции, коричневого цвета (образцы 3, 4, 5, 7, 9, 10). Остальные составы расслаивались в течение 24 часов хранения или 1–50 суток.

Провели анализ полученных образцов на коллоидную и термическую стабильность при хранении в течение 3 месяцев. По данным дисперсионного анализа установили, что значимое ($p < 0,05$) наибольшее влияние на стабильность образцов ТСД фукоидана имеет полоксамер 407 (50 %), в то время как влияние содержания полиоксил 40 ГKM и ПЭГ-400 менее выражено (25 %) (рисунок 1). Влияние полоксамера 407 на стабильность представлена на рисунке 2. Установлено, что введение в состав основы полоксамера 407 в концентрации 9 % обеспечивает необходимые структурно-механические ее свойства.

Для изучения влияния вспомогательных веществ на стабильность ТСД разработали алгоритм, учитывающий соотношение компонентов и водной и липофильной фаз, первоначально рассчитали количество компонентов водной и липофильной фаз и относительное содержание компонентов к друг другу. Полученные данные были ранжированы с учетом ста-

Таблица 1. Составы исследуемых образцов ТСД фукоидана (масс.%)

Table 1. Compositions of the samples of transdermal delivery system with fucoidan (mas.%)

№	Полоксамер 407 Poloxamer 407	Масло оливковое Olive oil	Полиоксил 40 ГKM Polyoxyl 40 hydrogenated castor oil	ПЭГ-400 PEG-400	ДЭМЭ Diethylene glycol monomethyl ether	Нипагин Nipagin	Нипазол Nipazol	Вода Water	Стабильность при хранении* Storage stability*
1	4,5	5	4	2,5	1	0,15	0,05	67,8	1
2	4,5	10	8	5	1	0,15	0,05	56,3	1
3	4,5	15	12	7,5	1	0,15	0,05	44,8	3
4	4,5	20	16	10	1	0,15	0,05	33,3	3
5	9	5	8	7,5	1	0,15	0,05	54,3	3
6	9	10	4	10	1	0,15	0,05	50,8	2
7	9	15	16	2,5	1	0,15	0,05	41,3	3
8	9	20	12	5	1	0,15	0,05	37,8	2
9	13,5	5	12	10	1	0,15	0,05	43,3	3
10	13,5	10	16	7,5	1	0,15	0,05	36,8	3
11	13,5	15	4	5	1	0,15	0,05	46,3	2
12	13,5	20	8	2,5	1	0,15	0,05	39,8	2
13	18	5	16	5	1	0,15	0,05	39,8	1
14	18	10	12	2,5	1	0,15	0,05	41,3	1
15	18	15	8	10	1	0,15	0,05	32,8	1
16	18	20	4	7,5	1	0,15	0,05	34,3	1

Примечание. * 1 – образец расслоился в течение 24 часов; 2 – образец расслоился в течение 1–50 суток; 3 – образец стабилен при хранении в течение 90 суток.

Note. * 1 – the sample is stable for less than 24 hours; 2 – the sample is stable for 1–50 days; 3 – the sample is stable during storage for 90 days.

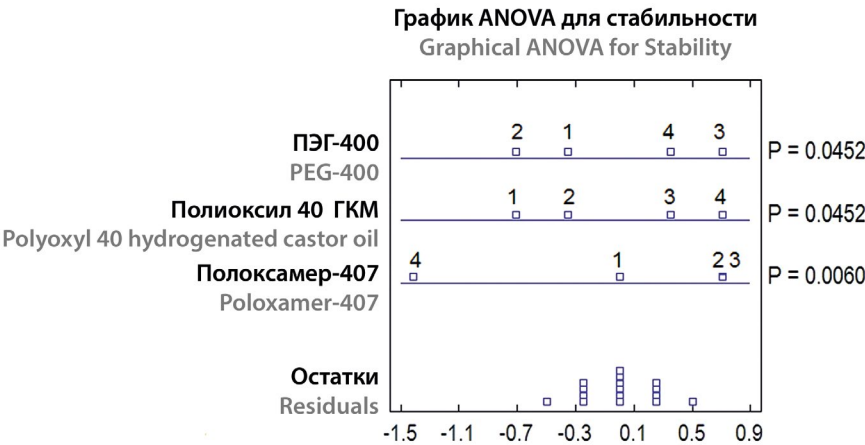


Рисунок 1. Графическое представление данных дисперсионного анализа
Figure 1. Graphical representation of ANOVA data

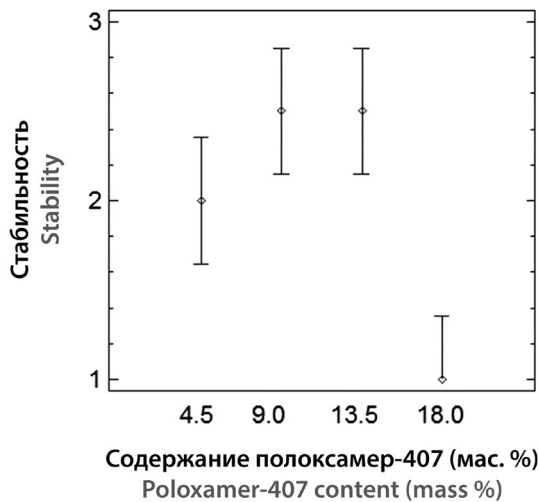


Рисунок 2. Средние значения параметра стабильность и 95%-е доверительные интервалы для четырех уровней фактора содержания полоксамера 407.
* 1 – образец расслоился в течение 24 часов; 2 – образец расслоился в течение 1–50 суток; 3 – образец стабилен при хранении в течение 90 суток
Figure 2. Mean values of stability and 95 % confidence intervals for four levels of the poloxamer 407 content.
* 1 – the sample delaminated within 24 hours; 2 – the sample delaminated within 1–50 days; 3 – the sample is stable during storage for 90 days

бильности максимального относительного содержания каждого компонента к минимальному.

На основании полученных данных установили, что для обеспечения стабильности ТСД фукоидана требуется соблюдение следующих условий:

1. Отношение полоксамера 407 к водной фазе должно быть не менее 0,1 и не более 0,37 (объясняет расслоение образцов 1, 2, 13–16).

2. Отношение воды к водной фазе должно быть не менее 0,56 и не более 0,69 (объясняет расслоение образцов 1, 2, 13–16).
 3. Отношение полиоксил 40 ГKM к масляной фазе должно быть не менее 0,34 (объясняет расслоение образцов 6, 8, 11, 12).
- Образцы № 3, 4, 5, 7, 9 и 10 далее проанализировали на коллоидную и термическую стабильность и определили их pH (таблица 2).

Таблица 2. Физико-химическая характеристика образцов ТСД фукоидана

Table 2. Physic-chemical characteristics of the samples of transdermal delivery system with fucoidan

№ образца Sample №	Термическая стабильность Thermal stability	Коллоидная стабильность Colloidal stability	pH
3	Не стабильный Not stable	Стабильный Stable	4,12
4	Не стабильный Not stable	Стабильный Stable	4,25
5	Не стабильный Not stable	Не стабильный Not stable	4,34
7	Стабильный Stable	Стабильный Stable	5,26
9	Стабильный Stable	Стабильный Stable	4,71
10	Стабильный Stable	Стабильный Stable	4,87

Образцы 7, 9 и 10 были проанализированы в тесте «Растворение» (рисунок 3) и определены их структурно-механические характеристики (рисунок 4). Полученные данные свидетельствуют о том, что высвобождение фукоидана из образца 7 протекает интенсивно в течение первого часа эксперимента, к 60 минуте высвобождается практически 100 % действующего вещества. Высвобождение фукоидана из образцов 9 и 10 не превышало 50 % за это же время. Линеаризация кривых высвобождения фукоидана из образца № 7 ТСД в координатах: количество лекарст-

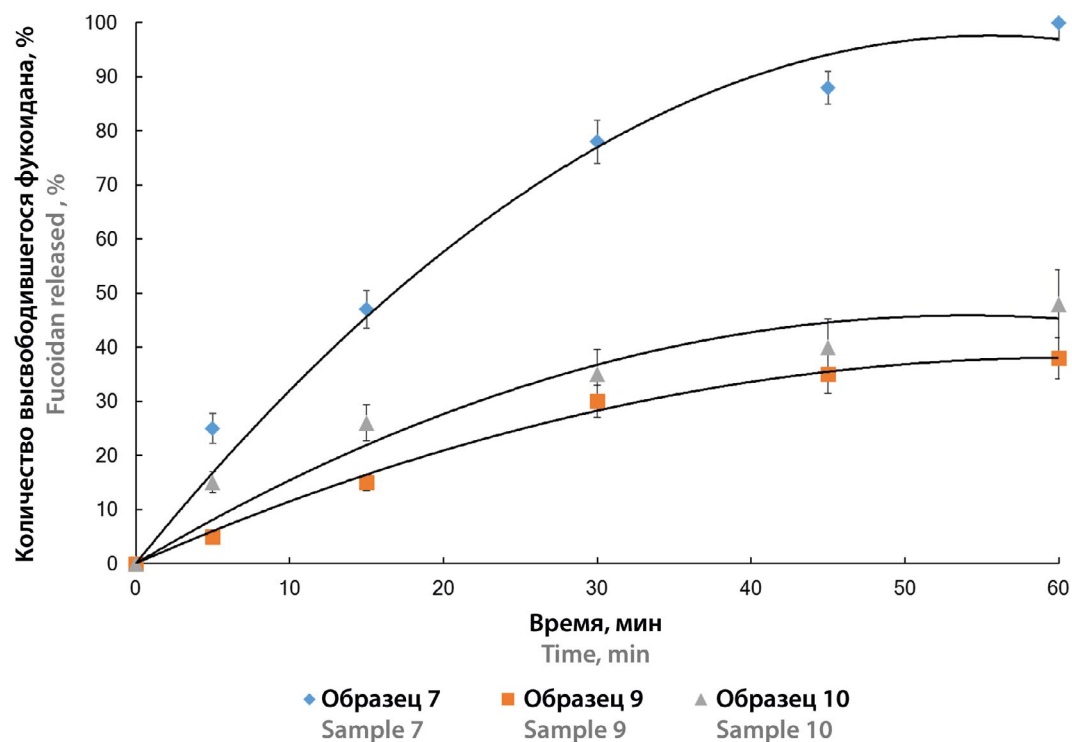


Рисунок 3. Профиль высвобождения фукоидана из ТСД

Figure 3. Release profile of fucoidan from of transdermal delivery system

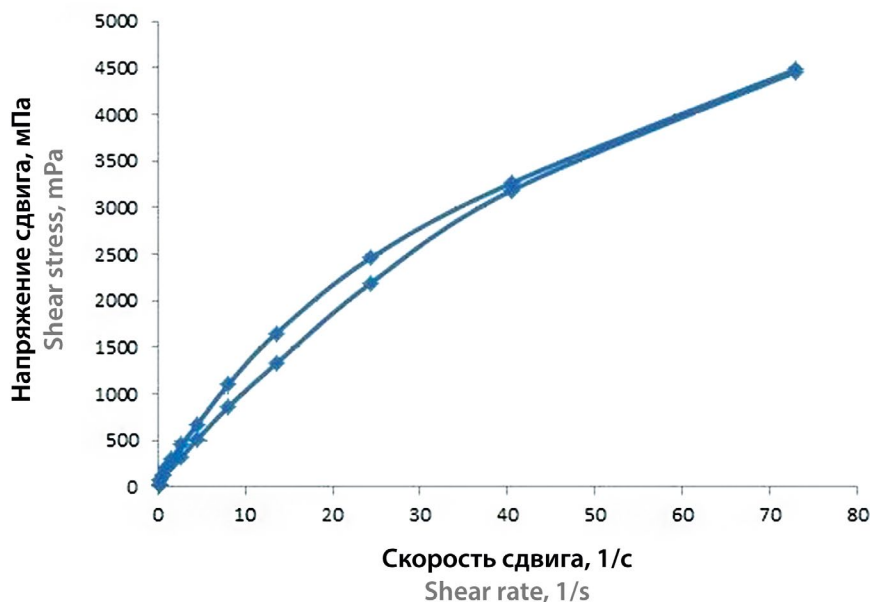


Рисунок 4. Реограмма течения ТСД фукоидана

Figure 4. Flow rheogram of transdermal delivery system with fucoidan

вещества, перешедшего в раствор, – корень квадратный от времени (R^2 0.9903) позволяет предположить, что высвобождение действующего вещества протекает путем диффузии. Таким образом, скорость высвобождения фукоидана описывается

теоретической моделью Higuchi [11]. Водородный показатель образца 7 приближен к pH кожи человека (см. таблица 2).

При дальнейшей оценке реологических характеристик ТСД выявили, что у образцов № 9 и 10 невоз-

можно снять показания из-за густой консистенции. На основании полученных результатов провели расчет величин предельного напряжения сдвига и эффективной вязкости, построили зависимость напряжения сдвига от скорости сдвига (см. рисунок 4).

Как видно из данных рисунка 4, образец № 7 относится к неньютоновским типам течения и обладает пластическими свойствами. Восходящая кривая (см. рисунок 4) отражает процесс разрушения системы под влиянием механических воздействий. Нисходящая кривая демонстрирует сохранение остаточной деформации после разрушения структуры, что свидетельствует о наличии пластично-вязких и тиксотропных свойств образца № 7. Наличие петли гистерезиса свидетельствует о наличии в структуре системы тиксотропных свойств [27].

В результате проведенных исследований создали методологическую схему разработки ТСД фукоидана на основе подхода QbD (рисунок 5). Данная методологическая схема учитывает физико-химические и

технологические особенности фукоидана и позволяет создать высококачественную ТСД, обеспечивающую стабильность и полное высвобождение действующего вещества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая специфические свойства фукоидана, он может быть применен в качестве альтернативы прямым антикоагулянтам (гепарину и т. п.) широко используемых в терапии тромбофлебитов и тромбозов. Для обеспечения глубокого (проникающего/резорбтивного) действия фукоидана разработана ТСД. Обобщив данные литературы и результаты собственных ранее проведенных исследований выбрали вспомогательные вещества для ТСД. В соответствии с принципом QbD, методом математического планирования эксперимента с последующим дисперсионным анализом, установили значимость влияния концентраций вспомогательных веществ на стабильность ТСД

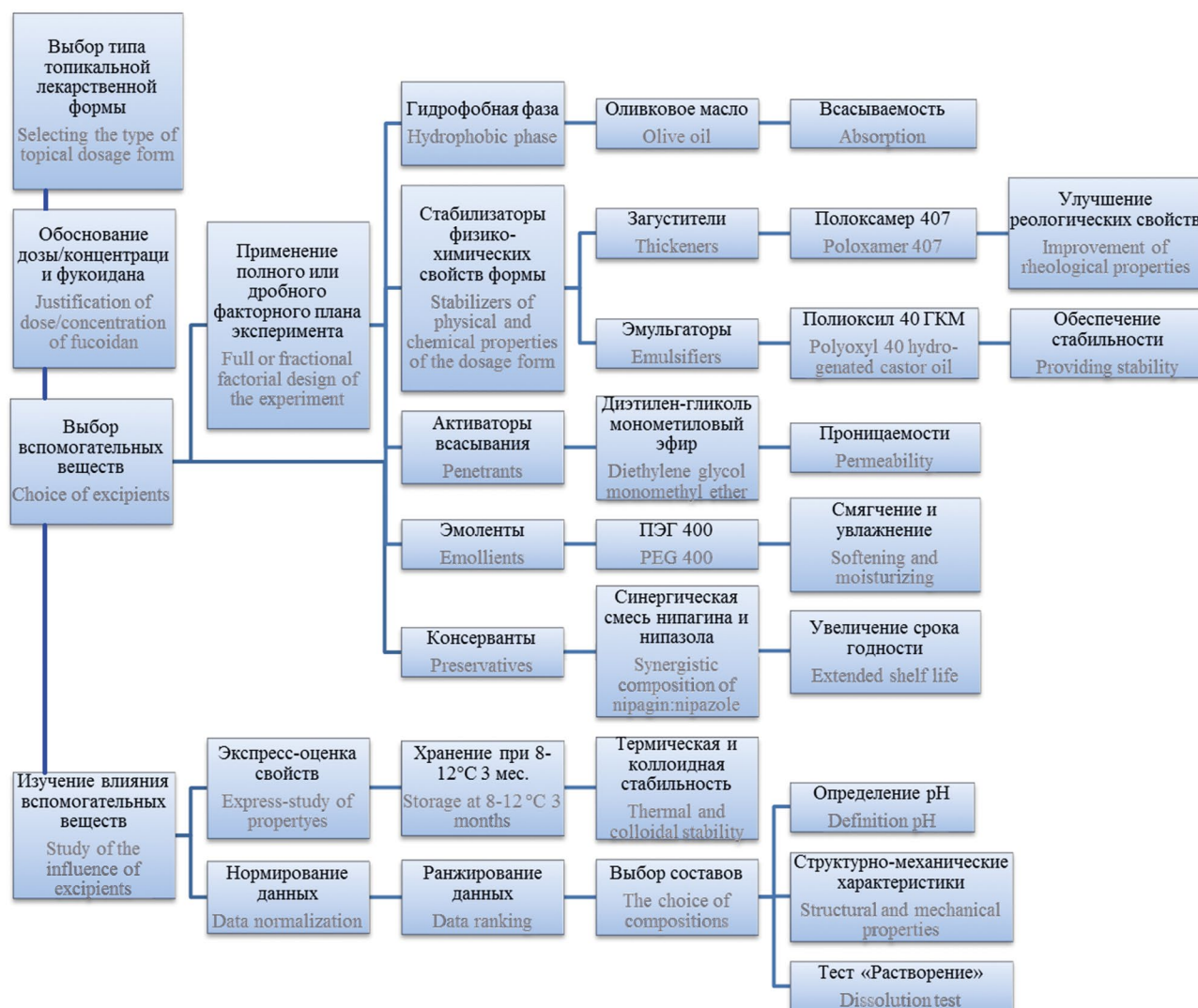


Рисунок 5. Методологическая схема разработки ТСД фукоидана

Figure 5. Methodology of development of transdermal delivery system with fucoidan

при хранении. Тесты на термическую и коллоидную стабильность выявили три наиболее устойчивых образца ТСД. Последующий тест на высвобождение фукоидана из ТСД и изучение реологических свойств привело к выбору оптимального состава трансдермальной системы доставки фукоидана. В результате проведения комплекса исследований экспериментально-теоретически обоснована методологическая схема разработки трансдермальной системы доставки морского полисахарида фукоидана в рамках подхода Quality by Design.

ЛИТЕРАТУРА

- Fitton J. H., Stringer D. N., Park A. Y., Karpiniec S. S. Therapies from fucoidan: New developments. *Mar Drugs*. 2019;17(10):571. DOI: 10.3390/md17100571.
- Tanna B., Mishra A. Nutraceutical potential of seaweed polysaccharides: Structure, bioactivity, safety, and toxicity. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2019;18(3):817–831. DOI: 10.1111/1541-4337.12441.
- Wang Y., Xing M., Cao Q., Ji A., Liang H., Song S. Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. *Mar. Drugs*. 2019;17(3):183. DOI: 10.3390/md17030183.
- Voskoboinik A., Butcher E., Sandhu A., Nguyen D. T., Tzou W., Della Rocca D. G., Natale A., Zado E. S., Marchlinski F. E., Aguilar M., Sauer W., Tedrow U. B., Gerstenfeld E. P. Direct thrombin inhibitors as an alternative to heparin during catheter ablation: A multicenter experience. *Clin Electrophysiol.* 2020;6(5):484–490. DOI: 10.1016/j.jacep.2019.12.003.
- Pozharitskaya O. N., Obluchinskaya E. D., Shikov A. N. Mechanisms of bioactivities of fucoidan from the brown seaweed *Fucus vesiculosus* L. of the Barents Sea. *Mar Drugs*. 2020;18(5):275. DOI: 10.3390/md18050275.
- Шараф А. Х., Бондарева Е. Д., Крышень К. Л., Пожарицкая О. Н., Облучинская Е. Д., Макарова М. Н. Мутагенные свойства субстанции фукоидана. *Фармация*. 2018;67(3):46–51. DOI: 10.29296/25419218-2018-03-09.
- Порембская О. Я. Топические средства для лечения хронических заболеваний вен. *Состав как основа эффективности. Flebologia*. 2020;14(4):322–327. DOI: 10.17116/flebo202014041322.
- Barbosa A. I., Coutinho A. J., Costa Lima S. A., Reis S. Marine polysaccharides in pharmaceutical applications: Fucoidan and chitosan as key players in the drug delivery match field. *Mar Drugs*. 2019;17(12):654. DOI: 10.3390/md17120654.
- Yu L. X. Pharmaceutical quality by design: product and process development, understanding, and control. *Pharm. Res.* 2008;25(4):781–791. DOI: 10.1007/s11095-007-9511-1.
- Облучинская Е. Д. Сухой экстракт фукуса, способ его получения и антикоагулянтная мазь на его основе. Патент РФ на изобретение № RU 2506089 C1. 10.02.2014. Доступно по: <https://www.freepatent.ru/patents/2506089>. Ссылка активна на 11.10.2022.
- Fotaki N., Klein S., editors. In vitro drug release testing of special dosage forms. Hoboken: John Wiley & Sons; 2019. 312 p.
- Косман В. М., Облучинская Е. Д., Пожарицкая О. Н., Макарова М. Н., Шиков А. Н. Сквозная стандартизация субстанции фукоидана и препаратов на ее основе. *Фармация*. 2017;66(6):20–24.
- Мустафин Р. А., Насыбуллина Н. М., Поцелуева Л. А. Исследование реологических свойств лекарственных форм мелоксикама для наружного применения. *Успехи современного естествознания*. 2010;1:11–14.
- Семкина О. А., Джавахян М. А., Левчук Т. А., Гагулашвили Л. И., Охотникова В. Ф. Вспомогательные вещества, используемые в технологии мягких лекарственных форм (мазей, гелей, линиментов, кремов). *Химико-фармацевтический журнал*. 2005;39(9):45–48.
- Pozharitskaya O. N., Shikov A. N., Obluchinskaya E. D., Vuorela H. The pharmacokinetics of fucoidan after topical application to rats. *Mar Drugs*. 2019;17(12):687. DOI: 10.3390/md17120687.
- Viljoen J. M., Cowley A., Du Preez J., Gerber M., Du Plessis J. Penetration enhancing effects of selected natural oils utilized in topical dosage forms. *Drug Dev Ind Pharm.* 2015;41(12):2045–2054. DOI: 10.3109/03639045.2015.1047847.
- Venkatesan J., Bhatnagar I., Kim S.-K. Chitosan-Alginate biocomposite containing fucoidan for bone tissue engineering. *Mar Drugs*. 2014;12(1):300–316. DOI: 10.3390/md12010300.
- Анурова М. Н., Бахрушина Е. О., Демина Н. Б. Обзор современных гелеобразователей в технологии лекарственных форм. *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(9):39–46.
- Querobino S. M., de Faria N. C., Vigato A. A., da Silva B. G., Machado I. P., Costa M. S., Costa F. N., de Araujo D. R., Alberto-Silva C. Sodium alginate in oil-poloxamer organogels for intravaginal drug delivery: Influence on structural parameters, drug release mechanisms, cytotoxicity and in vitro antifungal activity. *Mater. Sci. Eng. C*. 2019;99:1350–1361. DOI: 10.1016/j.msec.2019.02.036.
- Nascimento M. H. M., Franco M. K. K. D., Yokaichya F., De Paula E., Lombello C. B., De Araujo D. R. Hyaluronic acid in Pluronic F-127/F-108 hydrogels for postoperative pain in arthroplasties: Influence on physico-chemical properties and structural requirements for sustained drug-release. *Int. J. Biol. Macromolecules*. 2018;111:1245–1254. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.064.
- Ramya K. A., Kodavaty J., Dorishetty P., Setti M., Deshpande A. P. Characterizing the yielding processes in pluronic-hyaluronic acid thermoreversible gelling systems using oscillatory rheology. *J Rheol.* 2019;63(2):215–228. DOI: 10.1122/1.5045073.
- Pandey A., Mittal A., Chauhan N., Alam S. Role of surfactants as penetration enhancer in transdermal drug delivery system. *J. Mol. Pharm. Org. Process Res.* 2014;2(2):113. DOI: 10.4172/2329-9053.1000113.
- Dragicevic N., Maibach H. I., editors. Percutaneous penetration enhancers drug penetration into/through the skin. Berlin: Springer Nature; 2017. 869 p.
- Савельева К. Р., Андреевичева Т. Ю., Персанова Л. В., Остапко О. А., Поляков С. В., Шестаков В. Н. Разработка технологии и методов контроля бифункциональной мази. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;4(4):50–54.
- Williams A. C., Barry B. W. Penetration enhancers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004;56(5):603–618. DOI: 10.1016/j.addr.2003.10.025.
- Hadgraft J., Lane M. E. Advanced topical formulations (ATF). *Int. J. Pharm.* 2016;514(1):52–57. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.05.065.
- Молохова Е. И., Сорокина Ю. В., Липин Д. Е. Оптимизация состава мази с фитоэкдистероидами серпиистена. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):89–95. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-89-95.

REFERENCES

- Fitton J. H., Stringer D. N., Park A. Y., Karpiniec S. S. Therapies from fucoidan: New developments. *Mar Drugs*. 2019;17(10):571. DOI: 10.3390/md17100571.
- Tanna B., Mishra A. Nutraceutical potential of seaweed polysaccharides: Structure, bioactivity, safety, and toxicity. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2019;18(3):817–831. DOI: 10.1111/1541-4337.12441.
- Wang Y., Xing M., Cao Q., Ji A., Liang H., Song S. Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. *Mar. Drugs*. 2019;17(3):183. DOI: 10.3390/md17030183.
- Voskoboinik A., Butcher E., Sandhu A., Nguyen D. T., Tzou W., Della Rocca D. G., Natale A., Zado E. S., Marchlinski F. E., Aguilar M., Sauer W., Tedrow U. B., Gerstenfeld E. P. Direct thrombin inhibitors as an alternative to heparin during catheter ablation: A multicenter experience. *Clin Electrophysiol.* 2020;6(5):484–490. DOI: 10.1016/j.jacep.2019.12.003.
- Pozharitskaya O. N., Obluchinskaya E. D., Shikov A. N. Mechanisms of bioactivities of fucoidan from the brown seaweed *Fucus vesiculosus* L. of the Barents Sea. *Mar Drugs*. 2020;18(5):275. DOI: 10.3390/md18050275.
- Sharaf A. Kh., Bondareva E. D., Kryshen K. L., Pozharitskaya O. N., Obluchinskaya E. D., Makarova M. N. Mutagenic properties of the substance fucoidan. *Pharmacy*. 2018;67(3):46–51. (In Russ.) DOI: 10.29296/25419218-2018-03-09.
- Porembskaya O. Ya. Topical agents for the treatment of chronic venous diseases. Composition as the basis of efficiency. *Flebologia*. 2020;14(4):322–327. (In Russ.) DOI: 10.17116/flebo202014041322.
- Barbosa A. I., Coutinho A. J., Costa Lima S. A., Reis S. Marine polysaccharides in pharmaceutical applications: Fucoidan and chi-

- tosan as key players in the drug delivery match field. *Mar Drugs*. 2019;17(12):654. DOI: 10.3390/md17120654.
9. Yu L. X. Pharmaceutical quality by design: product and process development, understanding, and control. *Pharm. Res.* 2008;25(4):781–791. DOI: 10.1007/s11095-007-9511-1.
 10. Obluchinskaya E. D. Dry fucus extract, method for preparing it, and base anticoagulant ointment. Patent RUS № 2506089 C1. 10.02.2014. Available at <https://www.freepatent.ru/patents/2506089>. Accessed 11.10.2022. (In Russ.)
 11. Fotaki N., Klein S., editors. In vitro drug release testing of special dosage forms. Hoboken: John Wiley & Sons; 2019. 312 p.
 12. Kosman V. M., Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Makarova M. N., Shikov A. N. Through standardization of the substance fucoidan and its based preparations. *Pharmacy*. 2017;66(6):20–24. (In Russ.)
 13. Mustafin R. A., Nasibullina N. M., Potselueva L. A. Examination of rheological properties of meloxicam dosages forms for outward application. *Uspekhi Sovremennogo Estestvoznaniya*. 2010;1:11–14. (In Russ.)
 14. Semkina O. A., Dzhavakhyan M. A., Gagulashvili L. I., Okhotnikova V. F., Levchuk T. A. Auxiliary substances used in technology of soft medicinal forms: ointments, gels, liniments, and creams. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2005;39(9):497–499. (In Russ.) DOI: 10.1007/s11094-006-0008-8.
 15. Pozharitskaya O. N., Shikov A. N., Obluchinskaya E. D., Vuorela H. The pharmacokinetics of fucoidan after topical application to rats. *Mar Drugs*. 2019;17(12):687. DOI: 10.3390/md17120687.
 16. Viljoen J. M., Cowley A., Du Preez J., Gerber M., Du Plessis J. Penetration enhancing effects of selected natural oils utilized in topical dosage forms. *Drug Dev Ind Pharm*. 2015;41(12):2045–2054. DOI: 10.3109/03639045.2015.1047847.
 17. Venkatesan J., Bhatnagar I., Kim S.-K. Chitosan-Alginate biocomposite containing fucoidan for bone tissue engineering. *Mar Drugs*. 2014;12(1):300–316. DOI: 10.3390/md12010300.
 18. Anurova M. N., Bakhrushina E. O., Demina N. B. Review of contemporary gel-forming agents in the technology of dosage forms. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(9):627–634. (In Russ.) DOI: 10.1007/s11094-015-1342-5.
 19. Querobino S. M., de Faria N. C., Vigato A. A., da Silva B. G., Machado I. P., Costa M. S., Costa F. N., de Araujo D. R., Alberto-Silva C. Sodium alginate in oil-poloxamer organogels for intravaginal drug delivery: Influence on structural parameters, drug release mechanisms, cytotoxicity and in vitro antifungal activity. *Mater. Sci. Eng. C*. 2019;99:1350–1361. DOI: 10.1016/j.msec.2019.02.036.
 20. Nascimento M. H. M., Franco M. K. K. D., Yokaichyia F., De Paula E., Lombello C. B., De Araujo D. R. Hyaluronic acid in Pluronic F-127/F-108 hydrogels for postoperative pain in arthroplasties: Influence on physico-chemical properties and structural requirements for sustained drug-release. *Int. J. Biol. Macromolecules*. 2018;111:1245–1254. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.064.
 21. Ramya K. A., Kodavaty J., Dorishetty P., Setti M., Deshpande A. P. Characterizing the yielding processes in pluronic-hyaluronic acid thermoreversible gelling systems using oscillatory rheology. *J Rheol*. 2019;63(2):215–228. DOI: 10.1122/1.5045073.
 22. Pandey A., Mittal A., Chauhan N., Alam S. Role of surfactants as penetration enhancer in transdermal drug delivery system. *J. Mol. Pharm. Org. Process Res*. 2014;2(2):113. DOI: 10.4172/2329-9053.1000113.
 23. Dragicevic N., Maibach H. I., editors. Percutaneous penetration enhancers drug penetration into/through the skin. Berlin: Springer Nature; 2017. 869 p.
 24. Saveleva K. R., Andreevicheva T. Y., Persanova L. V., Ostapyuk O. A., Polyakov S. V., Shestakov V. N. Development of technology and methods of control of bifunctional ointment. *Drug development & registration*. 2017;(4):50–54. (In Russ.)
 25. Williams A. C., Barry B. W. Penetration enhancers. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2004;56(5):603–618. DOI: 10.1016/j.addr.2003.10.025.
 26. Hadgraft J., Lane M. E. Advanced topical formulations (ATF). *Int. J. Pharm*. 2016;514(1):52–57. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.05.065.
 27. Molokhova E. I., Sorokina Yu. V., Lipin D. E. Optimization of the composition of the ointment with phytoecdysteroids seripisten. *Drug Development & Registration*. 2021;10(4):89–95. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-89-95.