

ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 547.91

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОСФЕР, СОДЕРЖАЩИХ ИММОБИЛИЗОВАННЫЙ ДИКЛОФЕНАК

**Там Тхи Тхань Нгуен[@], аспирант, С.А. Кедик, заведующий кафедрой,
В.В. Суслов, ведущий инженер, Е.А. Шняк, ведущий инженер,
Е.В. Ворфоломеева, ведущий инженер, Е.В. Никонорова, студент**

*Кафедра биомедицинских и фармацевтических технологий
МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119571 Россия
[@] Автор для переписки, e-mail: dllh429@yahoo.com*

На основании проведенных исследований предложен метод получения полимерных микросфер с иммобилизованным диклофенаком. Разработанная методология иммобилизации диклофенака позволила получить полимерные микросферы с характеристиками, обеспечивающими пролонгированное высвобождение лекарственного вещества из полимерной матрицы.

Ключевые слова: диклофенак, сополимер молочной и гликолевой кислот, микросферы.

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR PREPARING POLYMER MICROSPHERES CONTAINING IMMOBILIZED DICLOFENAC

**Tam Tkhi Tkhan Nguen[@], S.A. Kedik, V.V. Suslov, E.A. Shnyak,
E.V. Vorfolomeeva, E.V. Nikonorova**

*M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies,
Moscow, 119571 Russia
[@] Corresponding author e-mail: dllh429@yahoo.com*

The dependence of characteristics of microspheres and the kinetics of drug release from the particles on the type and intensity of mechanical action on the emulsion upon the preparation of polymeric microspheres containing encapsulated diclofenac based on a copolymer of lactic and glycolic acids was investigated. According to the results of the research conditions were selected for the production of microspheres with the gradual release of drug from the particles during two weeks. The polymer microspheres are promising for further study and creation of prolonged dosage forms of diclofenac on their basis.

Keywords: diclofenac, copolymer of lactic and glycolic acids, microspheres.

Введение

Заболевания опорно-двигательной системы, такие как ревматоидный артрит, остеоартрит и анкилозирующий спондилит, представляют собой распространенные хронические заболевания, основными проявлениями которых являются воспаление и боль. По современным представлениям, боль не только вызывает страдания и ухудшает качество жизни больного, она выступает в роли фактора, серьезно влияющего на трудоспособность и социальную ак-

тивность. На сегодняшний день не вызывает сомнения, что нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) являются уникальными средствами патогенетического купирования боли и воздействия на воспаление при ревматоидных заболеваниях.

Наиболее известным и распространенным препаратом является диклофенак натрия, обладающий достаточной эффективностью для лечения ревматоидных заболеваний. К сожалению, клинические достоинства НПВП ограничиваются риском развития серьезных осложнений. Наиболее распространенны-

ми и опасными нежелательными реакциями, возникающими при применении НПВП, являются поражения желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [1].

Разработка и создание пролонгированной парентеральной лекарственной формы диклофенака является подходом для предотвращения поражений ЖКТ и повышения эффективности лечения.

Цель настоящей работы – получение полимерных микросфер сополимера молочной и гликолевой кислот (СМГК) и разработка методологии иммобилизации диклофенака в них.

Экспериментальная часть

В работе использовали субстанцию диклофенака натрия (Hunan Arshine Biotechnology Co. Ltd, Китай), сополимер молочной и гликолевой кислот (Evonik Industries, Германия), метилцеллюлозу водорастворимую SM-100 (Schin Etsu, Япония), поливиниловый спирт (ММ – 40000) (Chang Chun Petrochemical Co. Ltd, Тайвань), бензиловый спирт, этилацетат (Aldrich, США).

В качестве перемешивающих устройств использовали верхнеприводную мешалку IKA RW 16 basic (Германия), гомогенизатор ULTRA TURRAX T25 BASIC (IKA WERKE, Германия), ультразвуковой диспергатор УЗД-500 (Сумы–Прибор, Украина).

Распределение частиц полимерной суспензии по размерам оценивали с помощью лазерного анализатора частиц Beckman Coulter LS 13320 (США).

Диклофенак в форме кислоты получали путем подкисления водного раствора его натриевой соли соляной кислотой [2].

Микросферы сополимера молочной и гликолевой кислот, содержащие инкапсулированную кислоту диклофенака, были получены по следующей методике: смешивали 3 мл 24.15% (здесь и далее – масс./масс.) раствора кислоты диклофенака в бензиловом спирте с 7 мл 13.7% раствора сополимера в этилацетате. Полученный раствор диспергировали в 51 мл водного раствора, содержащего поливиниловый спирт (1.5%) и метилцеллюлозу (2%), с помощью ультразвукового диспергатора, гомогенизатора или лопастной мешалки. Затем полученную дисперсию добавляли в 1000 мл охлажденной до температуры 4-5°C воды и выдерживали в течение 8 ч при перемешивании и постепенном повышении температуры до 20°C. В течение этого времени происходило частичное удаление растворителей и иммобилизация диклофенака в объеме микросфер. Полимерные микросферы отделяли центрифугированием, ресуспендировали в 1000 мл 5% водного раствора этилового спирта, перемешивали в течение 30-60 мин при температуре 15-25°C и повторно центрифугировали. Полученные микросферы высушивали лиофильно.

Количественное определение содержания дикло-

фенака в полученных полимерных микросферах проводили с помощью ранее разработанного хроматографического метода с использованием жидкостного хроматографа «Стайер» (Россия) с колонкой Luna C18 (2) Phenomenex размером 4.6×250 мм, заполненной сорбентом с диаметром частиц 5 мкм, и УФ-детектированием (длина волны 254 нм). В качестве подвижной фазы использовали систему ацетонитрил – вода (70:30), содержащую 1% ортофосфорной кислоты [3].

Изучение кинетики выделения диклофенака из полимерных микросфер проводили по следующей методике: в мерную колбу емкостью 100 мл помещали навеску 200 мг лиофилизата полимерных микросфер, содержащих иммобилизованный диклофенак, добавляли фосфатный буферный раствор, pH 7.35-7.45 (0.31% натрия дигидрофосфата, 1.14% натрия гидрофосфата, 0.14% натрия хлорида, 0.02% натрия азиды, 0.02% Полисорбата 20) до метки, перемешивали и выдерживали в водяном термостате LOIP LB-224 (Россия) при 37.0±0.5°C в течение 14 дней. Кинетику выделения лекарственного вещества оценивали по содержанию диклофенака в пробах, взятых на 1, 2, 3, 5, 7 и 14 день. Для этого через указанные промежутки времени отбирали по 5 мл раствора, затем добавляли буферный раствор до метки. Количество диклофенака, перешедшего в фосфатный буферный раствор, определяли методом УФ-спектрофотометрии при длине волны 254 нм (спектрофотометр СФ-104, Россия).

Результаты и их обсуждение

Микросферы сополимера молочной и гликолевой кислот с иммобилизованным диклофенаком получали при различных видах диспергирования суспензии СМГК в водном растворе, содержащем поливиниловый спирт и метилцеллюлозу: с помощью ультразвукового диспергатора (табл. 1), гомогенизатора (табл. 2) и лопастной мешалки (табл. 3), и анализировали по следующим показателям: средний размер частиц, распределение частиц по размерам и содержание диклофенака в микросферах.

Содержание диклофенака в полученных микросферах составило от 354 до 441 мг/г. Максимальное содержание диклофенака (441 мг/г) было получено при диспергировании суспензии лопастной мешалкой.

Результаты оценки распределения частиц полимерной суспензии по размерам с помощью лазерного анализатора частиц Beckman Coulter LS 13320 представлены на рис. 1–3. Средний размер частиц, полученных при ультразвуковом воздействии, составляет 1 мкм (рис. 1), при перемешивании гомогенизатором – находится в диапазоне от 1 до 6 мкм (рис. 2), а при диспергировании лопастной мешалкой – изменяется в интервале от 15 до 84 мкм (рис. 3).

Таблица 1. Характеристики полимерных микросфер с диклофенаком, полученных при обработке дисперсии ультразвуковым диспергатором в течение 1 мин

Мощность, Вт	200	300	400
Средний размер частиц, мкм	1.01 ± 0.6	0.94 ± 0.4	0.78 ± 0.8
Содержание диклофенака в микросферах, мг/г	374.3 ± 28	362.6 ± 1.5	354.8 ± 2.2
Степень включения ЛВ, %	58.6 ± 1.8	51.9 ± 2.5	46.5 ± 2.8
Выход, %	78.3 ± 1.6	71.5 ± 2.9	65.5 ± 2.1

Таблица 2. Характеристики полимерных микросфер с диклофенаком, полученных при обработке дисперсии гомогенизатором в течение 1 мин

Скорость перемешивания, об/мин	6500	9500	13500
Средний размер частиц, мкм	5.81 ± 0.8	1.89 ± 0.5	1.34 ± 0.7
Содержание диклофенака в микросферах, мг/г	398.2 ± 1.5	384.8 ± 2.7	369.4 ± 1.3
Степень включения ЛВ, %	62.3 ± 3.2	58.2 ± 3.5	52.3 ± 1.9
Выход, %	78.2 ± 2.4	75.6 ± 1.8	70.8 ± 2.6

Таблица 3. Характеристики полимерных микросфер с диклофенаком, полученных при обработке дисперсии лопастной мешалкой в течение 1 мин

Скорость перемешивания, об/мин	150	200	400
Средний размер частиц, мкм	83.71 ± 1.2	26.52 ± 0.6	15.62 ± 0.9
Содержание диклофенака в микросферах, мг/г	441.6 ± 2.5	439.2 ± 2.8	403.8 ± 3.1
Степень включения ЛВ, %	75.6 ± 1.9	74.6 ± 1.2	68.3 ± 2.5
Выход, %	85.5 ± 2.7	84.9 ± 1.6	84.6 ± 1.4

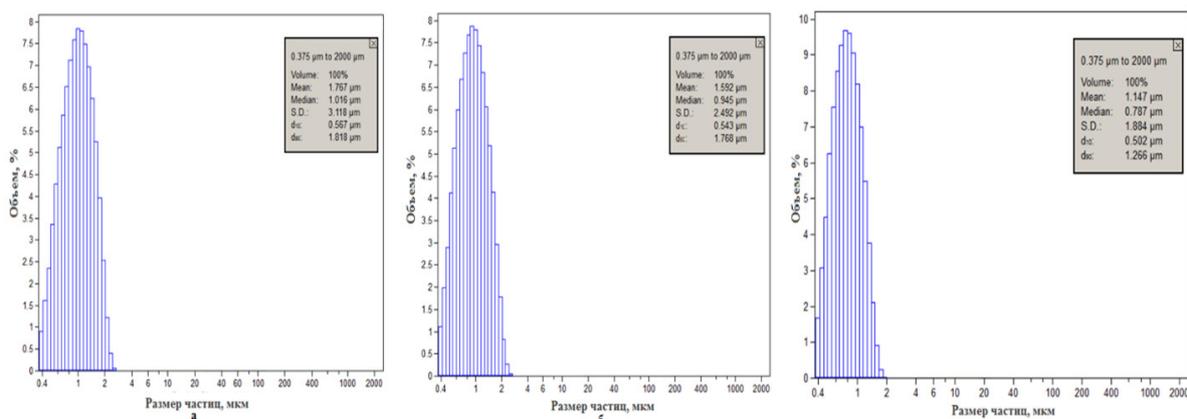


Рис. 1. Распределение частиц по размерам при обработке дисперсии ультразвуковым диспергатором: а – мощность 200 Вт; б – мощность 300 Вт; в – мощность 400 Вт.

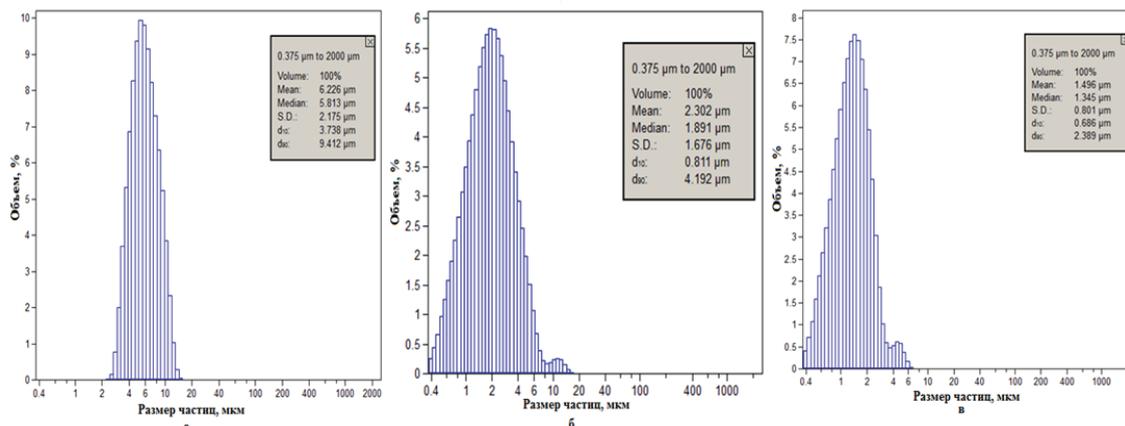


Рис. 2. Распределение частиц по размерам при обработке дисперсии гомогенизатором: а – скорость 6500 об/мин; б – скорость 9500 об/мин; в – скорость 13500 об/мин.

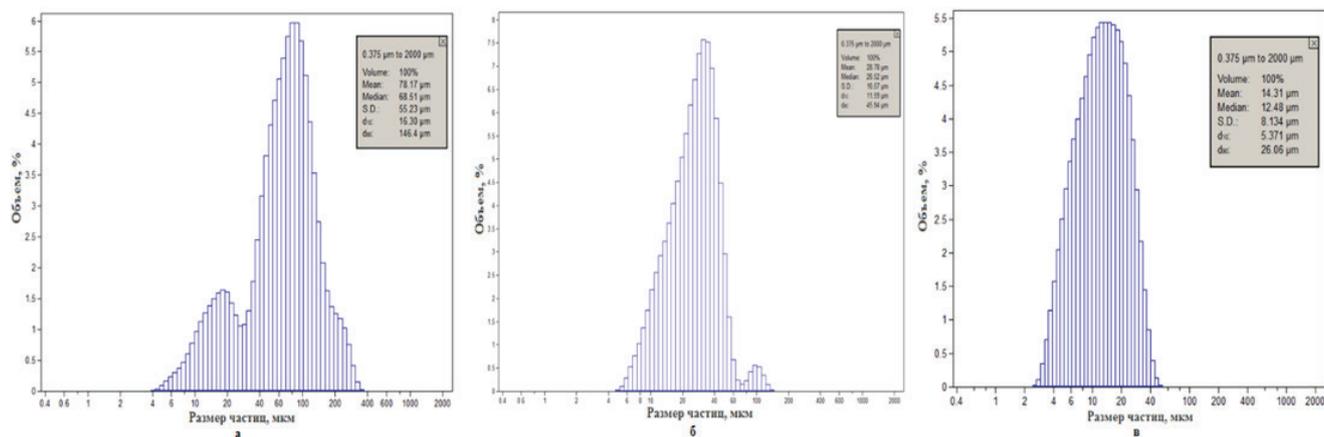


Рис. 3. Распределение частиц по размерам при обработке дисперсии лопастной мешалкой: а – скорость 150 об/мин; б – скорость 200 об/мин; в – скорость 400 об/мин.

Согласно литературным данным, размер микро-частиц, применяемых для инъекционного введения, должен укладываться в диапазон от 20 до 100 мкм [4]. Средний размер полимерных микросфер с иммобилизованным диклофенаком, полученных при перемешивании лопастной мешалкой, соответствует требуемому диапазону. Данные полимерные микросферы были выбраны для исследования кинетики выделе-

ния диклофенака из частиц в фосфатный буферный раствор (табл. 4).

Одним из основных требований, предъявляемых к НПВП, является продолжительность курса их применения – от 7 до 14 дней [5]. Полимерные микросферы, содержащие иммобилизованный диклофенак, должны обеспечить выделение активного вещества в течение этого периода времени.

Таблица 4. Кинетика высвобождения диклофенака из полимерных микросфер, полученных при диспергировании лопастной мешалкой

Скорость перемешивания, об/мин	150	200	400
Высвобождение диклофенака из микросфер, %:			
1 день	10.5 ± 0.8	18.9 ± 1.2	47.5 ± 0.9
2 день	17.2 ± 0.6	38.1 ± 0.9	71.1 ± 1.4
3 день	22.6 ± 1.3	54.4 ± 0.6	93.5 ± 1.6
5 день	26.7 ± 1.5	66.7 ± 0.8	
7 день	28.8 ± 1.7	76.2 ± 1.8	
14 день	30.2 ± 0.7	84.1 ± 1.5	

Из представленных в табл. 4 результатов видно, что только полимерные микросферы, полученные при скорости перемешивания лопастной мешалкой 200 об/мин, характеризуются требуемой кинетикой высвобождения ЛВ в течение рекомендованного периода курсового применения диклофенака.

Заключение

По результатам исследования была разработана методология получения микросфер сополимера молочной и гликолевой кислот, содержащих иммобилизованный диклофенак, высвобождение которого из полимерных частиц происходит в течение двух недель. Полученные полимерные микросферы являются перспективными для дальнейшего изучения и создания на их основе пролонгированной лекарственной формы диклофенака.

Список литературы:

1. Каратеев А.Е., Яхно Н.Н., Лазебник Л.Б., Кукушкин М.Л., Дроздов В.Н., Исаков В.А., Насонов Е.Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов: клинические рекомендации. М.: ИМА-ПРЕСС, 2009. 168 с.
2. Beck R.C.R., Pohlmann A.R., Benvenuti E.V., Dalla Costa T., Guterres S.S. // J. Braz. Chem. Soc. 2005. V. 16. № 6A. P. 1233–1240.
3. Нгуен Там Тхи Тхань, Кедик С.А., Балдаев А.Е., Беляков А.В., Суслов В.В., Ворфоломеева Е.В., Петрова Е.А., Бексаев С.Г. // Тонкие химические технологии. (Вестник МИТХТ) 2015. Т. 10. № 1. С. 56–59.
4. Жаворонок Е.С., Кедик С.А., Панов А.В., Петрова Е.А., Суслов В.В. Полимерные микрочастицы для медицины и биологии: учеб. пособие / Под ред. С.А. Кедика. М.: ЗАО «Институт фармацевтических

технологий», 2014. 477 с.

5. Якупова С.П. // Практическая медицина. 2008. № 32. С. 8–10.

References:

1. Karateev A.E., Yahno N.N., Lazebnik L.B., Kukushkin M.L., Drozdov V.N., Isakov V.A., Nasonov E.L. *Primeneniye nesteroidnykh protivovospalitelnykh preparatov: klinicheskie rekomendatsii* (The use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: clinical guidelines). – М.: IMA-PRESS, 2009. 168 p.

2. Beck R.C.R., Pohlmann A.R., Benvenuti E.V., Dalla Costa T., Guterres S.S. // *J. Braz. Chem. Soc.* 2005. V. 16. № 6A. P. 1233–1240.

3. Nguen Tam Tkhi Tkhan, Kedik S.A., Baldaev A.E., Belyakov S.V., Suslov V.V., Vorfolomeeva E.V., Petrova E.A., Beksaev S.G. // *Fine Chemical Technologies. (Vestnik MITHT)*. 2015. V. 10. № 1. P. 56–59.

4. Zhavoronok E.S., Kedik S.A., Panov A.V., Suslov V.V. *Polymernye mikrochasticy dlya mediciny i biologii: ucheb. Posobie* (Polymeric microparticles for medicine and biology). / Ed. by S.A. Kedik. М.: ЗАО «Институт фармацевтических технологий» («Institute of pharmaceutical technologies»), 2011. 477 p.

5. Yakupova S.P. // *Prakticheskaya medicina* (Practical medicine). 2008. № 32. P. 8–10.