УДК 66.065.7 + 544.351.4

ПОЛУЧЕНИЕ МИКРОЧАСТИЦ ГИДРОКСИПРОПИЛМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ МЕТОДОМ СВЕРХКРИТИЧЕСКОГО АНТИСОЛЬВЕНТНОГО ОСАЖДЕНИЯ

[1,2]А. М. Воробей*, [1]К. Б. Устинович, [1]О. И. Покровский, [1,2]О.О. Паренаго, [1,2]В.В. Лунин

[1]*ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия*
[2]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия*

*anton-vorobey@mail.ru

Поступила в редакцию 1.10.2014 г.

Разработан процесс микронизации гидроксипропилметилцеллюлозы методом сверхкритического антисольвентного осаждения (SAS). Рассмотрено влияние различных параметров проведения процесса SAS, таких как тип растворителя, давление, концентрация полимера в растворе, соотношение скоростей потоков раствора и сверхкритического CO_2, на морфологию получаемых частиц. Показана возможность получения частиц гидроксипропилметилцеллюлозы сферической или эллиптической формы размером 190—620 нм в зависимости от выбора условий микронизации.

Ключевые слова: сверхкритический диоксид углерода, биорезорбируемые полимеры, СКФ микронизация, SAS, гидроксипропилметилцеллюлоза.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка и создание новых лекарственных форм пролонгированного действия и адресной доставки является одним из наиболее перспективных направлений развития современной фармакологии. Это связано с тем, что их использование позволяет минимизировать частоту приема лекарства и одновременно оптимизировать концентрацию в плазме крови активного фармацевтического компонента. Создание лекарственных форм пролонгированного действия и адресной доставки чаще всего связано с внедрением активного фармакологического ингредиента (АФИ) в биорезорбируемые полимерные частицы-носители определенных размеров и внутренней структуры [1, 2].

Гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ) является одним из полимеров, который наиболее широко используется в качестве матрицы для создания лекарственных форм пролонгированного действия. Этот полимер совместим с большим числом лекарственных препаратов, растворим в воде и прост в получении. Кроме того, при использовании ГПМЦ можно контролировать кинетику выхода активного компонента из матрицы путем варьирования, например, молекулярной массы полимера [3—6].

На пути создания лекарственных форм пролонгированного действия и адресной доставки часто стоит ряд проблем, связанных с применением больших коли-

честв токсичных растворителей и необходимостью использования достаточно высоких температур [7]. Использование сверхкритических флюидных (СКФ) подходов к созданию данных лекарственных форм позволяет частично или полностью избежать возникающих трудностей. Благодаря тому, что ГПМЦ не растворима в сверхкритическом CO_2, для создания частиц-носителей возможно применение антисольвентного осаждения (supercritical anti-solvent, далее SAS), в котором сверхкритический CO_2 выступает в роли антирастворителя [8].

Несмотря на бурный рост числа научных публикаций, посвященных применению сверхкритических методов инкапсуляции и формирования микрочастиц в последние два десятилетия, по некоторым аспектам этих технологий по-прежнему наблюдается недостаток базовой информации. В частности, в области формирования микрочастиц биорезорбируемых полимеров с помощью СКФ наибольшим вниманием пользуются полимеры молочной и гликолевой кислот, а также этиленоксида. Для остальных перспективных биорезорбируемых полимеров опубликованные в литературе исследования преимущественно посвящены простой демонстрации принципиальной применимости СКФ-методов для получения микрочастиц, что недостаточно для адекватной оценки перспектив их применимости в реальном фармацевтическом производстве. К числу таких объектов относятся алкильные производные целлюлозы, в частности, ГПМЦ. Кикик с сотрудниками исследовали возможность инкапсуляции модельного препарата теофиллина в ГПМЦ методом SAS [9, 10]. В качестве органического растворителя использовалась смесь CH_2Cl_2 — EtOH 1 : 1. Была продемонстрирована принципиальная возможность достижения приемлемого содержания активного ингредиента в препарате, а также доказана пролонгация времени выхода теофиллина в физиологический раствор из полученных микрочастиц по сравнению с чистым АФИ. Исследование влияния рабочих параметров процесса антисольвентного осаждения на размер и морфологию частиц не проводилось.

В серии работ Жао с сотрудниками [11—13] исследовались возможности применения метода SAS в варианте SEDS (с использованием коаксиального сопла, Solution Enhanced Dispersion by Supercritical Fluids) для получения композитов различных фармацевтических субстанций с фталатом ГПМЦ с целью создания препаратов контролируемого высвобождения. Распыление проводилось из смесей растворителей типа диметилсульфоксид (ДМСО) — ацетон или ДМСО — CH_2Cl_2, при этом выбор растворителей не обсуждался. Авторами описано влияние таких факторов, как давление, температура, соотношение скоростей потоков раствора и антирастворителя, а также концентрации ГПМЦ в растворе на морфологию и размер получаемых частиц. Во всех трех работах использовались сильно разбавленные растворы полимера концентрацией не выше 10 г/л, при этом формирование микрочастиц фиксировалось только при концентрациях не выше 4 г/л.

Целью данной работы являлось изучение влияния параметров проведения процесса сверхкритического антисольвентного осаждения на морфологию получаемых частиц гидроксипропилметилцеллюлозы. Основной упор делался на получение сведений о применимости различных органических растворителей в данном процессе, а также о возможности успешного формирования микрочастиц из концентрированных растворов полимера.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образец гидроксипропилметилцеллюлозы был предоставлен Р.М. Мухамедзяновым (Башкирская медицинская академия).

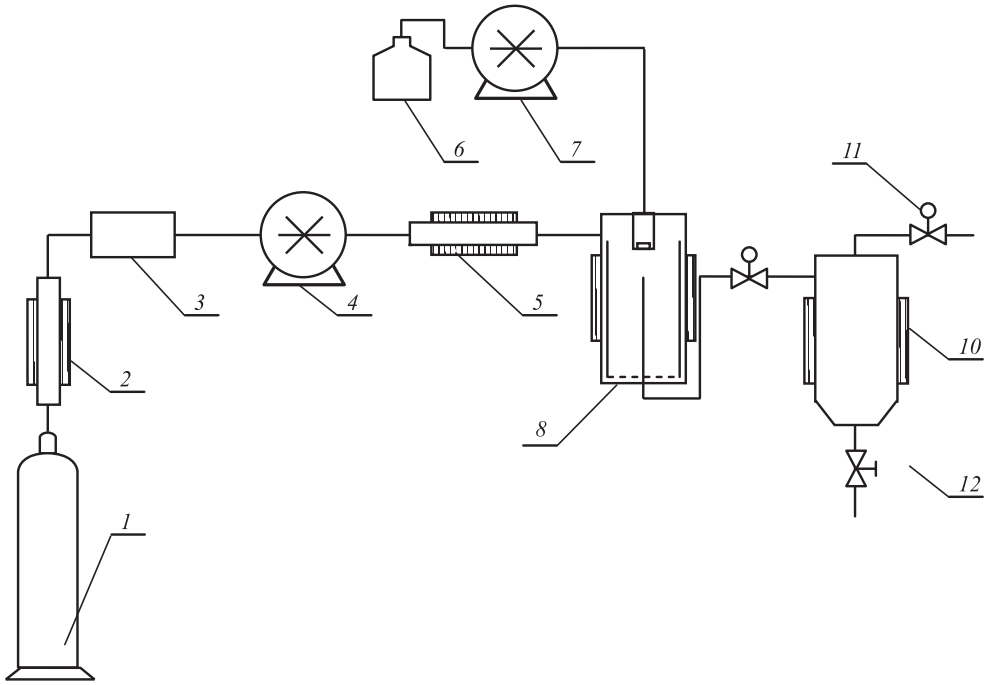


Рис. 1. Установка для проведения микронизации ГПМЦ с помощью процесса SAS:

1 — источник CO_2; *2* — охлаждающий теплообменник; *3* — расходомер Кориолиса; *4* — насос CO_2; *5* — нагреватель; *6* — раствор полимера; *7* — насос раствора; *8* — осадительный сосуд; *9* — автоматический регулятор давления; *10* — циклонный сепаратор; *11* — ручной регулятор давления; *12* — сливной кран

Для растворения ГПМЦ использовались метанол (для ВЭЖХ, 99,9 %, производства Lab-Scan, Польша, г. Гливице), хлороформ (марки «х.ч.», Химмед, г. Москва), ледяная уксусная кислота (марки «х.ч.», ГОСТ 61-75, Химмед, г. Москва), диметилсульфоксид (марки «х.ч.», Химмед, г. Москва). Диоксид углерода, использовавшийся в работе, соответствовал ГОСТ 8085-50 (пищевая чистота, Linde Gas).

На рис. 1 представлена блок-схема установки для проведения процесса сверхкритического антисольвентного осаждения.

В опытах по исследованию влияния органического растворителя антисольвентное осаждение проводили в следующих условиях: скорость потока раствора 1 мл/мин; скорость потока CO_2 50 г/мин; концентрация полимера в растворе 25 г/л; давление 150 бар; температура 40 °С. Для получения раствора навеску полимера добавляли к растворителю и обрабатывали смесь в ультразвуковой бане. Опыты по исследованию влияния других параметров на SAS-осаждение ГПМЦ проводили с использованием метанола в качестве растворителя при температуре 40 °С и скорости потока CO_2 50 г/мин. Концентрация полимера, скорость потока раствора и давление варьировались (см. таблицу 2). Скорость потока раствора составляла 0,5, 1 и 2 мл/мин в случае метанола и 1 мл/мин в случае других растворителей. Диаметр сопла был равен 100 мкм.

Анализ полученных микронизированных образцов ГПМЦ проводили методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе LEO 1450 (Карл Цейс, Германия) по стандартной методике.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе работы исследовали влияние растворителя на морфологию получаемых частиц ГПМЦ. Из приведенных в таблице 1 данных видно, что в случае метанола, хлороформа и ледяной уксусной кислоты средний размер получаемых частиц практически одинаков (0,25—0,31 мкм). Небольшое увеличение среднего размера частиц (до 0,42 мкм) наблюдается лишь в случае диметилсульфоксида. Особого внимания заслуживает следующее качественное наблюдение: формирования микрочастиц удается достичь при использовании всех приведенных растворителей и при распылении относительно концентрированных растворов. Этот факт подтверждает перспективность использования SAS в фармации для микроинкапсулирования АФИ.

В то же время выбор растворителя оказывает заметное влияние на агрегацию получаемых частиц. На рис. 2 приведены СЭМ фотографии образцов ГПМЦ, полученных при использовании в качестве растворителя уксусной кислоты (*а*), диметилсульфоксида (*б*), хлороформа (*в*) и метанола (*г*). Видно, что во всех случаях форма частиц в той или иной степени близка к сферической, но степень слипания сильно зависит от выбранного растворителя. Так, в случае уксусной кислоты наблюдаются сильно сросшиеся частицы ГПМЦ, форма которых в наибольшей степени, по сравнению с другими растворителями, отклоняется от сферической. При использовании диметилсульфоксида, наоборот, получаемые порошки характеризуются минимальной степенью слипания и их форма ближе к сферической, чем у частиц, полученных из раствора уксусной кислоты. В случае хлороформа и метанола степени слипания частиц сходны.

Очевидного объяснения такому поведению не найдено. Величины вязкости и массовой плотности растворителей, приведенные в таблице 1, никак не коррелируют ни со степенью слипания частиц, ни со степенью отклонения от сферической формы. Возможно, многофакторный анализ с привлечением аппарата количественных параметров растворимости поможет объяснить наблюдаемые данные.

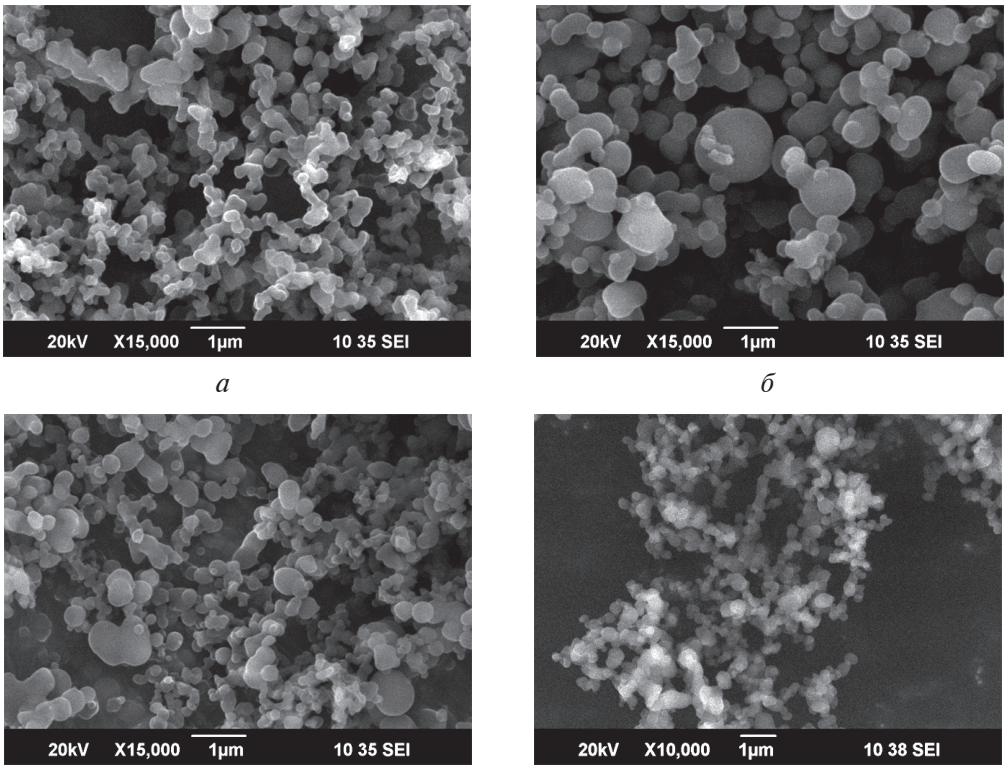
Во всех последующих экспериментах в качестве растворителя использовали метанол. Сводные результаты этих опытов представлены в таблице 2.

В первой серии опытов в качестве варьируемых параметров при проведении процесса SAS были выбраны концентрация полимера в растворе и скорость потока раствора. Процесс проводили при фиксированном давлении 150 бар. На рис. 3 представлены зависимости среднего размера частиц ГПМЦ от концентрации полимера в растворе в случае потоков раствора 0,5, 1 и 2 мл/мин. Из полученных

Таблица 1

Средний размер частиц ГПМЦ, получаемых с помощью метода сверхкритического антисольвентного осаждения при использовании различных растворителей

Растворитель	Плотность при 25 °С, г/мл	Динамическая вязкость при 25 °С, МПа·с	Кинематическая вязкость при 25 °С, сСт	Средний диаметр частиц, нм	Степень слипания частиц
Уксусная кислота	1,050	1,160	1,105	250±2	Высокая
Хлороформ	1,490	0,540	0,362	290±2	Средняя
Метанол	0,790	0,540	0,684	310±1	Средняя
ДМСО	1,100	1,990	1,809	420±3	Низкая



а *б* *в* *г*

Рис. 2. Частицы ГПМЦ, полученные при давлении 150 бар, скорости потока раствора 1 мл/мин, концентрации полимера в растворе 0,025 г/мл при использовании в качестве растворителя:

а — уксусной кислоты; *б* — диметилсульфоксида; *в* — хлороформа; *г* — метанола

Таблица 2

Результаты SAS-осаждения ГПМЦ из метанольного раствора

Концентрация полимера, г/мл	Скорость потока раствора, мл/мин	Давление, бар	Средний диаметр частиц, нм	Концентрация полимера, г/мл	Скорость потока раствора, мл/мин	Давление, бар	Средний диаметр частиц, нм
0,0125	0,5	150	193	0,05	1	200	480
0,025	0,5	150	254	0,05	1	250	507
0,05	0,5	150	434	0,0125	2	150	225
0,0125	1	150	194	0,025	2	150	283
0,025	1	150	306	0,025	2	200	276
0,025	1	200	394	0,025	2	250	281
0,025	1	250	322	0,05	2	150	453
0,0375	1	150	424	0,05	2	200	618
0,05	1	150	510	0,05	2	250	501

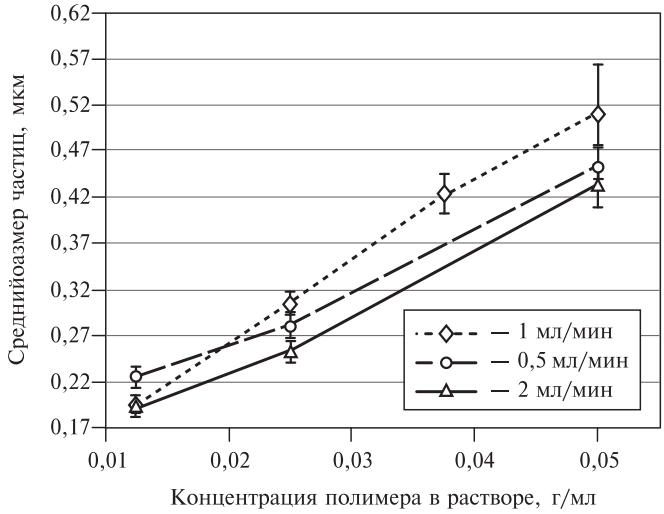
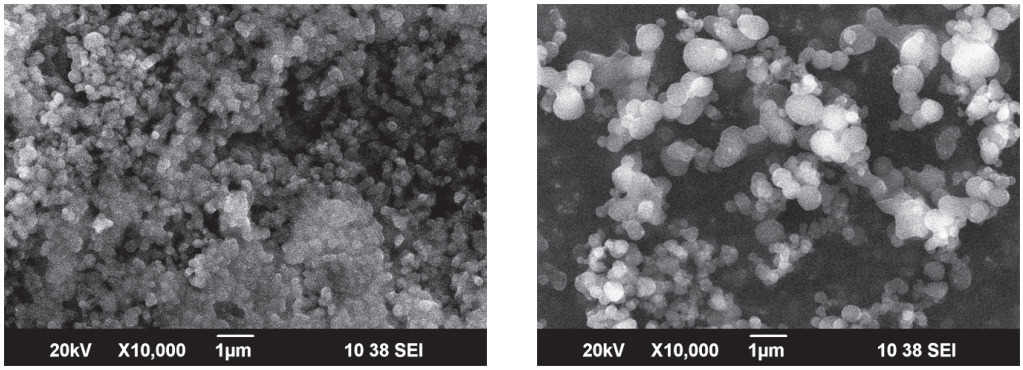


Рис. 3. Зависимость среднего размера частиц от концентрации полимера в растворе в случае потоков раствора 0,5, 1 и 2 мл/мин; давление — 150 бар

зависимостей хорошо видно, что концентрация полимера в растворе является фактором, который оказывает сильное влияние на размер получаемых частиц. Так, при увеличении концентрации с 12,5 г/л до 50 г/л наблюдается увеличение среднего размера частиц в 2,0—2,6 раза в зависимости от скорости потока раствора. На рис. 4 показан общий вид частиц ГПМЦ, получаемых при 150 бар и потоке 0,5 мл/мин в случае концентраций полимера в растворе 12,5 г/л (*а*) и 50 г/л (*б*).

Рост размера частиц ГПМЦ при увеличении концентрации имеет, по нашему мнению, следующее объяснение. Размер микрочастиц при распылении обусловлен соотношением скорости зародышеобразования и скорости роста частиц. При увеличении концентрации полимера в растворе скорость роста частиц увеличивается ввиду большей пространственной доступности материала. Скорость зародышеобразования также растет, но, по-видимому, в данном случае это происходит заметно медленнее. Следует особо подчеркнуть, что во всех приведенных опытах удавалось достичь образования пересыпаемых порошков, состоящих из частиц ГПМЦ субмикронного размера. В отношении ДМСО этот результат отличается от данных работы [12], в которой при использовании концентраций выше 4 г/л не удавалось достичь образования микрочастиц и полимер осаждался в виде монолитной губки либо пленки на дне сборника частиц SAS. Прямое сопоставление данных [12] и настоящей работы не вполне корректно, поскольку в [12] использовался метод SEDS (Solution Enhanced Dispersion by SCF — улучшенное СКФ диспергирование раствора, вариант процесса SAS с коаксиальным соплом), а в настоящей работе — классический SAS, в котором ввод антирастворителя в сосуд осуществляется через отдельный боковой порт в сосуде. Тем не менее следует подчеркнуть, что формирование микрочастиц ГПМЦ в SAS возможно при гораздо более высоких концентрациях полимера в распыляемом растворе, чем традиционно принято считать.

Скорость потока раствора также влияет на размер получаемых частиц, однако это влияние выражено не так явно, как в случае варьирования концентрации полимера в растворе. Так, средний размер частиц при большинстве концентраций оказывается наибольшим при скорости потока раствора 1 мл/мин. Наименьший размер частиц наблюдается при скорости потока 0,5 мл/мин. Помимо типа ра-



а *б*

Рис. 4. Частицы ГПМЦ, полученные при давлении 150 бар, скорости потока раствора 0,5 мл/мин и концентрации полимера в растворе:
а — 0,0125 г/мл; *б* — 0,05 г/мл

створителя, скорости потока раствора и концентрации полимера в растворе, было изучено влияние давления на морфологию получаемых частиц. На рис. 5 представлена диаграмма, демонстрирующая зависимости среднего размера частиц ГПМЦ при скорости потока раствора 1 мл/мин в случае концентраций полимера в растворе 12,5 и 50 г/л от давления. Из данных рис. 5 можно сделать вывод, что, как и в случае 150 бар, при давлениях 200 и 250 бар основным параметром, который наиболее сильно влияет на средний размер получаемых частиц, является концентрация полимера в растворе. При этом при концентрации 50 г/л давление практически не оказывает никакого влияния на размер получаемых частиц, тогда как при концентрации 25 г/л в случае давления 200 бар наблюдается его небольшое возрастание — примерно на 25 %. Таким образом, в случае давлений 150 и 250 бар при увеличении концентрации с 25 до 50 г/л средний размер частиц возрастает в 1,6 раза, а при давлении 200 бар — в 1,2 раза.

При увеличении скорости потока раствора (рис. 6) характер зависимости среднего размера частиц ГПМЦ от давления изменяется. В отличие от скорости потока

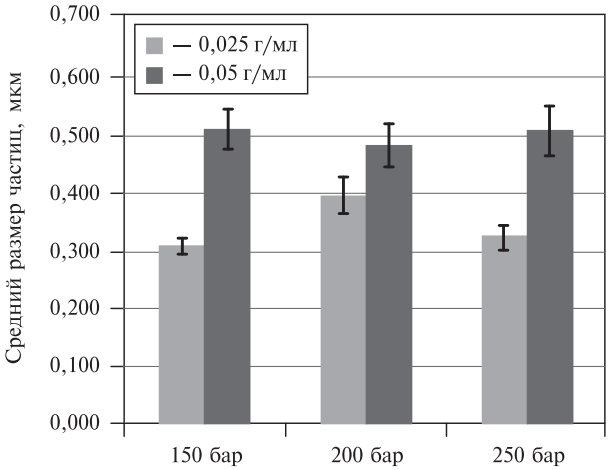


Рис. 5. Зависимость среднего размера частиц ГПМЦ от давления при концентрации полимера в растворе 0,025 г/мл и 0,05 г/мл; скорость потока раствора — 1 мл/мин

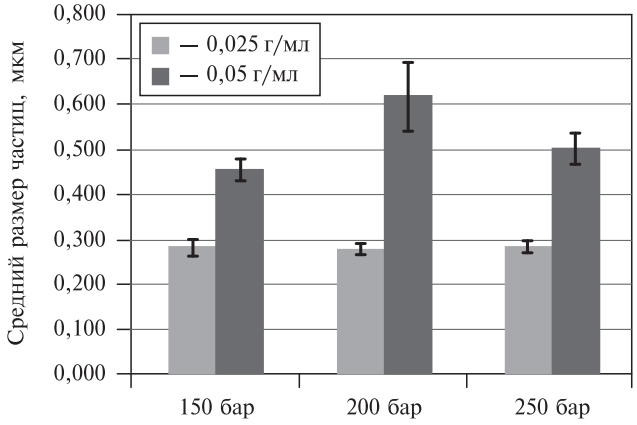


Рис. 6. Зависимость среднего размера частиц ГПМЦ от давления при концентрации полимера в растворе 0,025 г/мл и 0,05 г/мл; скорость потока раствора — 2 мл/мин

раствора 1 мл/мин, при 2 мл/мин давление не оказывает влияния на размер получаемых частиц при концентрации 25 г/л. При повышении концентрации полимера в растворе до 50 г/л в случае давления 200 бар наблюдается увеличение среднего размера частиц до 620 нм. Также следует отметить, что при увеличении концентрации полимера в растворе с 25 до 50 г/л рост среднего размера частиц при давлении 150 бар одинаков в случае скоростей потока раствора 1 и 2 мл/мин и составляет 1,6 раза. При давлении 250 бар он сравним (1,6 и 1,8 раза при 1 и 2 мл/мин соответственно). При давлении 200 бар наблюдается сильно различающееся при разных скоростях потока увеличение среднего размера частиц при увеличении концентрации: в 1,2 раза при 1 мл/мин и в 2,2 раза при 2 мл/мин.

В целом из приведенных данных можно сделать вывод о том, что в исследованных интервалах значений рабочих параметров давление оказывает незначительное влияние на морфологию и размер частиц ГПМЦ. В большинстве работ, посвященных исследованию влияния давления на размер частиц в SAS, это влияние является монотонным — размер частиц с ростом давления либо растет, либо падает. Тот факт, что в настоящей работе некоторые зависимости размеров частиц от давления проходят через слабо выраженный максимум, не совпадает с большинством известных данных о роли давления при использовании метода SAS. По нашему мнению, эти данные следует интерпретировать как практическое отсутствие зависимости размера от давления. Приведенные на рис. 5 и 6 величины погрешностей относятся к погрешности измерения размеров частиц по избранным СЭМ фотографиям отобранных образцов. С учетом обязательного наличия некоторого распределения частиц по размерам при антисольвентном осаждении можно предположить, что заметный рост диаметра частиц, наблюдаемый, например, при увеличении давления со 150 бар до 200 бар при скорости потока раствора 1 мл/мин, следует рассматривать не как точно установленный тренд, а как изменение, укладывающееся в доверительный интервал вероятности.

Таким образом, показана возможность получения частиц ГПМЦ субмикронного размера, варьируемого в зависимости от выбора условий микронизации, которые могут использоваться в дальнейшем как частицы-носители активных фармакологических компонентов для создания лекарственных форм пролонгированного действия и адресной доставки.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят Р.М. Мухамедзянова (Башкирская медицинская академия) за предоставление высокочистых образцов гидроксипропилметилцеллюлозы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 14-33-00017 (в части разработки методики СКФ антисольвентного осаждения) и Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 12-03-12270-офи-м (в части СЭМ анализа полученных микрочастиц).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sakiyama-Elbert S.E., Hubbell J.A.* J. Control. Rel. 2000. Vol. 65. P. 389.
2. *Marler J.J., Upton J., Langer R., Vacanti J.P.* Adv. Drug Del. Rev. 1998. Vol. 33. P. 165.
3. *Alderman D.A.* Int. J. Pharm. Technol. Prod. Manuf. 1984. Vol. 5. P. 1.
4. *Reynolds T.D., Gehrke S.H., Hussain A.S.* J. Pharm. Sci. 1998. Vol. 87. P. 1115.
5. *Li C.L., Martini L.G., Ford J.L., Roberts M.J.* Pharm. Pharmacol. 2005. Vol. 57. P. 533.
6. *Jaina A.K., Söderlindb E., Viridénb A.* J. Control. Rel. 2014. Vol. 187. P. 50.
7. *Griffith L.G.* Acta Mater. 2000. Vol. 48. P. 263.
8. *Reverchon E., Adami R.* J. Supercrit. Fluids. 2006. Vol. 37. No. 1. P. 1.
9. *Grassi M.,Kikic I., Moneghini M. et al.* HPMC and theophylline coprecipitation from supercritical CO_2: experimental and theoretical analysis of release kinetics from tablets // Proceedings of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids. 28–30 April 2003. Versailles, France. PMd7.
10. *Moneghini M., Perisutti B., Kikic I. et al.* Drug. Dev. Ind. Pharm. 2006. Vol. 32. P. 39.
11. *Jin H., Xia F., Yu W., Zhao Y.* Supercritical Antisolvent Processing of insulin/HPMCP nanocapsule preparation // Proceedings of the 9th International Symposium on Supercritical Fluids. 18—20 May 2009. Arcachon, France. P081.
12. *Jin H., Xia F., Zhao Y.* Adv. Powder Technol. 2012. Vol. 23. P. 157.
13. *Jin H., Xia F., Yu W., Zhao Y. et al.* Chin. J. Chem. Eng. 2009. Vol. 17. P. 672.

PREPARATION OF HYDROXYPROPYLMETHYLCELLULOSE MICROPARTICLES USING SUPERCRITICAL ANTISOLVENT PRECIPITATION

[1,2]A. M. Vorobei, [1]K. B. Ustinovich, [1]O. I. Pokrovskiy, [1]O. O. Parenago, [1,2]V. V. Lunin

[1] *Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of RAS, Moscow, Russia*
[2] *Lomonosov Moscow State University, Chemical Department, Moscow, Russia*

Micronization of hydroxypropylmethylcellulose using supercritical antisolvent (SAS) method is studied. The influence of various parameters, such as solvent type, polymer concentration, pressure, solution to supercritical CO_2 flow rate ratio on morphology of particles is discussed. The possibility of obtaining spherical or elliptical shape hydroxypropylmethylcellulose particles of submicron size (190-620 nm) that depends on the process parameters is demonstrated.

Key words: supercritical carbon dioxide, bioresorbable polymers, SCF-micronization, SAS, hydroxypropylmethylcellulose.