

## МИКРОНИЗАЦИИ МОКСИФЛОКСАЦИНА МЕТОДОМ СВЕРХКРИТИЧЕСКОГО АНТИСОЛЬВЕНТНОГО ОСАЖДЕНИЯ

**<sup>1</sup>Е.В. Кудряшова\*, <sup>1</sup>К.В. Суховерков, <sup>1</sup>И.М. Дейген,  
<sup>1,2</sup>А.М. Воробей, <sup>2</sup>О.И. Покровский, <sup>1,2</sup>О.О. Паренаго,  
<sup>3,4</sup>Д.Е. Преснов, <sup>1,5</sup>А.М. Егоров**

<sup>1</sup>*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия*

<sup>3</sup>*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

<sup>4</sup>*Научно-исследовательский институт ядерной физики им. Д.В. Скобельцына, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

<sup>5</sup>*Российская медицинская академия последипломного образования Министерства здравоохранения Российской Федерации (РМАПО) Москва, Россия*

\* Helena\_Koudriachova@hotmail.com

Поступила в редакцию 29.06.2016 г.

Для разработки новых лекарственных форм моксифлоксацина (антибактериального препарата группы фторхинолонов) применен метод микронизации лекарственной субстанции в режиме сверхкритического антисольвентного осаждения (SAS), который позволяет получать частицы моксифлоксацина (МФ) различного размера (от 0,6 до 8,0 мкм) и различной морфологии (от многоугольных пластинок до вытянутых параллелепипедов). Методами инфракрасной спектроскопии и спектроскопии кругового дихроизма показано, что микронизация МФ методом SAS не приводит к изменению химической структуры МФ и рацемизации препарата. Микронизация МФ оказывает влияние на скорость растворения лекарственной субстанции в физиологическом растворе (рН = 7,4), увеличивая ее на 20—30 % по сравнению с исходным МФ. Скорость растворения формирующихся в процессе SAS микрочастиц зависит от их размера, морфологии и степени кристалличности. Полученные данные будут применены для создания новых лекарственных форм МФ для лечения резистентных форм туберкулеза.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** моксифлоксацин, СКФ-микронизация, метод сверхкритического антисольвентного осаждения (SAS), ИК-спектроскопия, КД-спектроскопия, скорость растворения.

### ВВЕДЕНИЕ

Моксифлоксацин относится к антибактериальным препаратам 4-го поколения группы фторхинолонов (ФХ), действие которых основано на ингибировании ДНК-гиразы бактериальных клеток [1, 2], не оказывая влияния на ДНК-топоизомеразы клеток млекопитающих. Механизм действия фторхинолонов отличен от такового для других антибактериальных препаратов, что позволяет их эффективно использовать в терапии резистентных форм туберкулеза [3]. По уровню активности и

спектру антибактериального действия МФ превосходит многие антибиотики [4–6] и является одним из наиболее высокоэффективных препаратов для терапии резистентных форм туберкулеза. Однако применение МФ сопряжено с проявлением побочных эффектов, связанных с расстройством желудочно-кишечного тракта, фототоксичностью, гемодинамическими расстройствами и тромбообразованием [7]. Наиболее остро данная проблема проявляется в случае такой тяжелой инфекции, как туберкулез, когда требуется длительная медикаментозная терапия с применением высоких дозировок препарата. Токсический эффект можно снизить уменьшением терапевтической дозы лекарства за счет оптимизации его фармакокинетических характеристик путем создания новых лекарственных форм и систем доставки препарата.

Одним из наиболее перспективных направлений в создании новых лекарственных форм является использование сверхкритических флюидных (СКФ) технологий, позволяющих получать нано- и микрочастицы лекарственных компонентов с заданными свойствами, а также проводить их инкапсуляцию с использованием полимерных материалов [8, 9]. Следует отметить, что при производстве лекарственных препаратов сегодня предпочтение отдается в основном твердым формам с определенными и индивидуальными характеристиками (кристаллическая структура, размер, форма, морфология и др.). СКФ микронизация является хорошей альтернативой традиционным методам (дробление/измельчение, сублимация, перекристаллизация из растворителя, спрей-сушка, вымораживание и т.д.), используемым в производстве препаратов, содержащих кристаллические микро- и наночастицы. Методы СКФ технологий позволяют получать частицы с заданной дисперсностью, определенной кристаллической структурой и свойствами поверхности, варьировать состав, структуру, пористость и другие важные параметры лекарственных форм, что крайне важно при создании лекарств с контролируемой биодоступностью [10]. Использование СКФ позволяет повысить экологичность и экономическую эффективность производственного процесса [8]. Все процессы могут быть реализованы при невысоких температурах, что существенно расширяет спектр применяемых термолабильных биоактивных соединений; процедура выделения и очистки целевого продукта многократно упрощается [11]. Среди СКФ методов особую ценность для фармации представляет метод сверхкритического антисольвентного осаждения (Supercritical Anti-Solvent, SAS), поскольку он позволяет получать микрочастицы полярных субстанций, нерастворимых в сверхкритическом (СК)  $\text{CO}_2$ . Технология SAS успешно апробирована для ряда лекарственных препаратов различных классов: ризперидон, арбидол и др. [12–14].

В представленной работе с целью создания новых лекарственных форм моксифлоксацина с улучшенными фармакокинетическими характеристиками исследовано влияние условий проведения сверхкритического антисольвентного осаждения на физико-химические свойства субстанции МФ.

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

### **Материалы**

В работе использованы реактивы и материалы следующих производителей: МФ («Sansh Biotech Pvt. Ltd.», Индия); буферные соли и кислоты («Реахим», Россия); растворители: диметилсульфоксид (ДМСО), диметилформамид (ДМФА), уксусная кислота («Химмед», Россия); метанол («Lab-Scan», Польша); диоксид углерода («Linde Gas»).

## **Методы**

### ***Сверхкритическое антисольвентное осаждение***

Опыты по сверхкритическому антисольвентному осаждению моксифлоксацина проводили с использованием установки RESS/SAS («Waters Corp.»). Схема прибора и подробное описание процедуры микронизации приведены в [15]. Микронизацию МФ проводили следующим образом. Готовили растворы МФ в органическом растворителе при комнатной температуре. В установке задавали рабочие параметры давления, температуры всех термостатируемых блоков и скорости потока СК-СО<sub>2</sub> до их выхода на режимные значения. Жидкостной насос заполняли чистым растворителем и проводили распыление 10 мл чистого растворителя с рабочей скоростью в осадительный сосуд с целью уравнивания состава флюида в сосуде. Сразу после этого входную линию насоса перемещали в емкость с раствором МФ и проводили его распыление через сопло диаметром 100 мкм с той же объемной скоростью в осадительный сосуд. По израсходовании раствора целевого вещества дополнительно подавали в систему 15 мл чистого органического растворителя с целью промывки всех соединительных узлов, предшествующих распылительной форсунке. После этого выдерживали поток СК-СО<sub>2</sub> в осадительном сосуде еще в течение 20 минут с целью удаления из сосуда остатков органического растворителя. Затем останавливали поток СО<sub>2</sub> и с использованием автоматического регулятора осуществляли плавный сброс давления. Полученный порошок извлекали из осадительного сосуда при помощи встроенной сборной корзины.

Все опыты проводили при 40 °С и 150 бар; скорость потока раствора препарата поддерживали равной 1 мл/мин, скорость потока СО<sub>2</sub> — 50 г/мин (по данным массового расходомера). Концентрация МФ в растворах органических растворителей варьировалась от 1 до 50 г/л.

### ***Сканирующая электронная микроскопия***

Анализ исходного моксифлоксацина и его микронизированных форм проводили методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с помощью автоэмиссионного растрового электронного микроскопа SUPRA 40 («Carl Zeiss», Германия). Для достижения предельного разрешения в вакуумной камере, в которую помещались образцы, давление доводили до значения менее  $5 \cdot 10^{-6}$  мбар. Исследуемые образцы помещались на токопроводящую (углеродную) клейкую ленту и покрывались тонким (около 15—20 нм) слоем чистого золота для удаления электрического заряда, накапливающегося в процессе анализа. Золото наносилось методом плазменного магнетронного напыления в установке Z-400 («Leybold», Германия).

### ***Инфракрасная (ИК) спектроскопия***

ИК-спектры МФ и его микронизированных форм регистрировали на ИК-Фурье спектрометре Tensor 27 («Bruker», Германия), оснащенный МСТ-детектором, охлаждаемым жидким азотом, с термостатом фирмы «Huber» (США). Измерения проводили в термостатируемой ячейке нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) BioATR-II фирмы «Bruker» (Германия) с использованием кристалла однократного отражения ZnSe при 22 °С и постоянной скорости продувки системы сухим воздухом аппаратом Jun-Air (Германия). На кристалл ячейки НПВО наносили пробу (30 мкл) образца, спектр регистрировали трижды в интервале от 4000 до 950 см<sup>-1</sup> с разрешением 1 см<sup>-1</sup>; производили 70-кратное сканирование и усреднение. Фон регистрировали аналогично. Спектры анализировали с помощью программы Opus 7.0.

### **Спектроскопия кругового дихроизма (КД)**

Спектры КД МФ и его микронизированных форм регистрировали с помощью спектрометра J-815 фирмы «Jasco» (Япония), оснащенного термостатируемой ячейкой. Измерения проводили в диапазоне длин волн 200—300 нм при температуре 25 °С в кварцевой кювете ( $l = 1$  мм). Спектры получали 5-кратным сканированием с шагом 2 нм по методике, описанной в работе [15]. Измерение проводилось в водном растворе ( $pH = 7,4$ ) с концентрацией МФ 0,1—0,5 мг/мл.

### **Определение скорости растворения оксифлоксацина**

Навески образцов МФ 6—10 мг препарата суспендировали в 200—300 мкл натрий-фосфатного буферного раствора (15 мМ,  $pH = 7,4$ ) и инкубировали в шейкере при 37 °С и скорости перемешивания 200 об/мин. Через заданные промежутки времени отбирали пробы 25 мкл и центрифугировали при 15 000 об/мин в течение 15 мин. Затем отбирали пробы надосадочного раствора, которые путем последовательных разведений разбавляли в 2000—3000 раз фосфатным буферным раствором. УФ-спектры полученных растворов в диапазоне 260—330 нм при 25 °С регистрировали на приборе Ultrospec 2100 фирмы «American Biosharm» (США).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

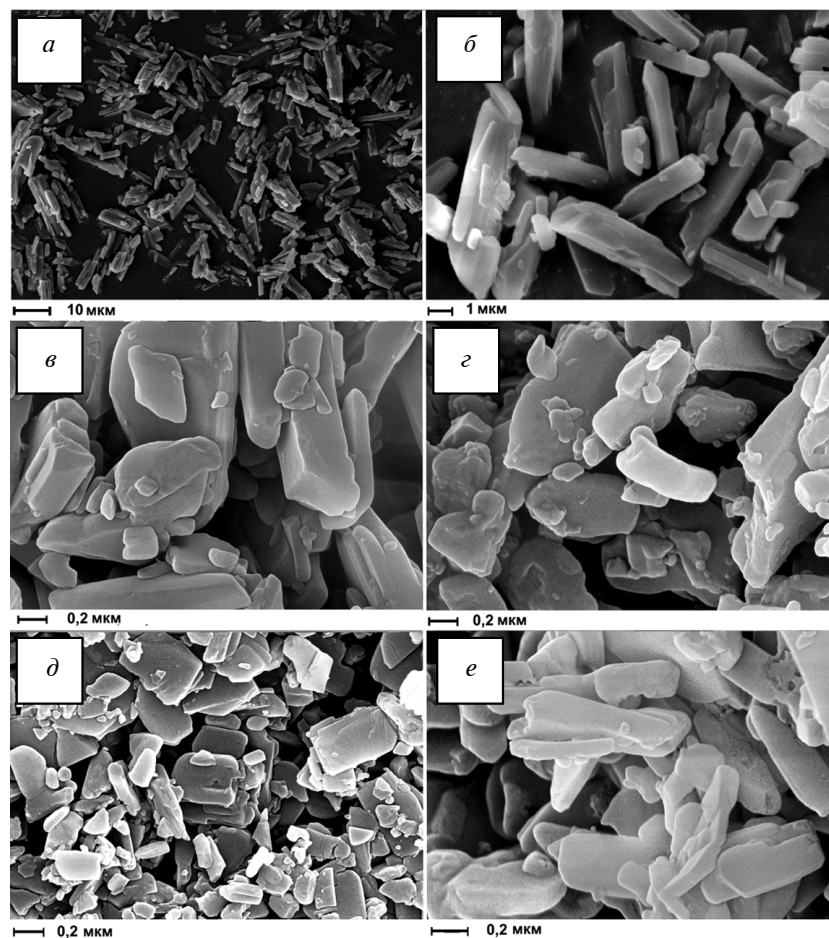
### **Зависимость размера и формы микронизированных частиц от типа органического растворителя и концентрации в нем МФ**

Исследовано влияние параметров SAS — типа растворителя и концентрации МФ в растворе — на размер и морфологию получаемых частиц. На рис. 1 представлены частицы исходного МФ и осажденного из различных растворителей. Частицы исходного МФ представляют собой вытянутые вдоль одной из осей параллелепипеды средним размером 8 мкм (рис. 1 а). В данной работе под средним размером частиц подразумевается длина частицы в наиболее протяженном направлении. Данные по среднему размеру и морфологии частиц, полученных методом SAS с использованием различных растворителей, приведены в таблице 1.

В результате микронизации методом SAS в зависимости от типа растворителя в приведенных случаях возможно получение частиц МФ различного размера: от 0,6 до 1,2 мкм. Для всех изученных растворителей микронизация приводит к получению частиц значительно меньшего размера по сравнению с размером частиц исходного порошка. Размер частиц, полученных с использованием уксусной кислоты и метанола, является наименьшим. Осаждаемые из ДМФА, ДМСО и метанола образцы представлены многоугольными частицами и параллелепипедами различной степени вытянутости. В случае уксусной кислоты частицы представляют собой многоугольные пластины.

Аналогичные результаты по влиянию растворителей на морфологию получаемых частиц были получены нами при микронизации левофлоксацина (ЛФ) [15]. Кристаллы ЛФ в форме вытянутых параллелепипедов образуются в тех же растворителях, что и в случае МФ (ДМСО, ДМФА и метанол). Использование уксусной кислоты в случае микронизации ЛФ также характеризуется образованием многоугольных пластин.

На морфологию и размер частиц влияет не только тип растворителя, но и концентрация МФ в растворе (рис. 2). Частицы, микронизированные из ДМСО, при концентрациях 1 и 25 г/л представляют собой многоугольные пластины с закругленными углами (рис. 2 а, б). При высоких концентрациях МФ в ДМСО



**Рис. 1.** Микрофотографии (СЭМ) образцов исходного МФ (*a, б*) и МФ, микронизированного из растворов в ДМСО (*в*), ДМФА (*г*), уксусной кислоте (*д*) и метаноле (*е*); исходная концентрация МФ в ДМСО, ДМФА и уксусной кислоте — 12,5 г/л, в метаноле — 6,5 г/л

*Таблица 1*

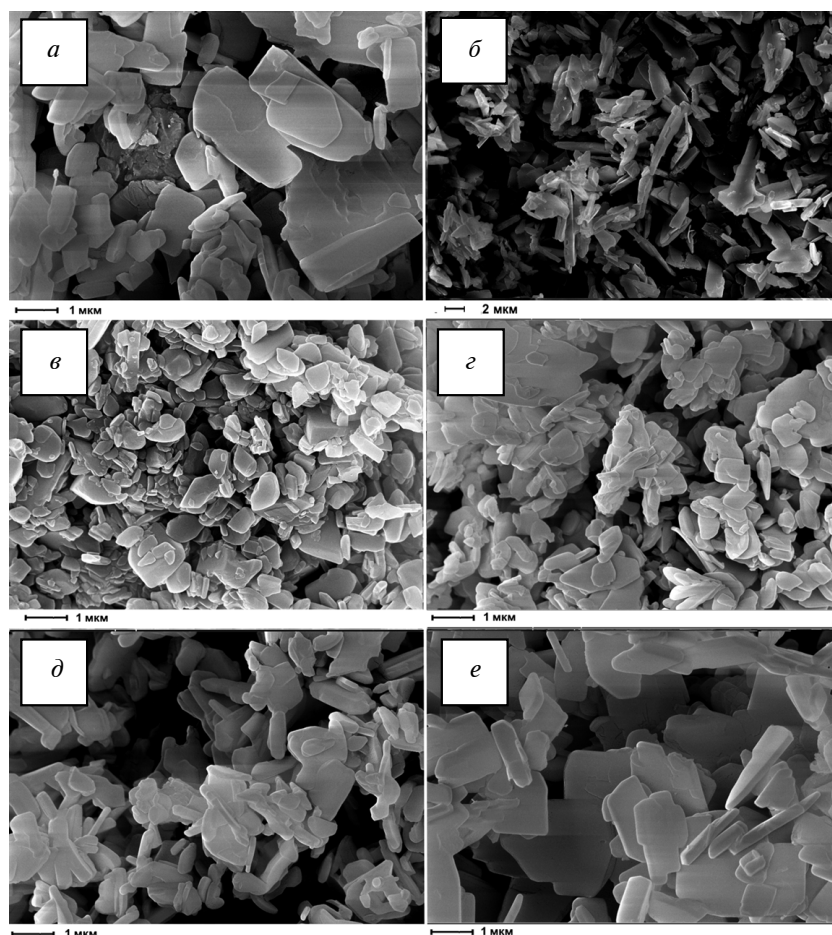
**Средний размер и морфология частиц МФ, микронизированных из различных растворителей при концентрации МФ в растворе 12,5 г/л**

Растворитель	Размер частиц, мкм	Морфология
Исходный МФ	$8,0 \pm 0,5$	Призматические сильно вытянутые кристаллы
ДМФА	$0,67 \pm 0,20$	Многоугольные частицы (слабо анизотропные)
ДМСО	$1,18 \pm 0,07$	Вытянутые формы, близкие к параллелепипедам
Метанол*	$0,66 \pm 0,06$	Вытянутые формы, близкие к параллелепипедам
Уксусная кислота	$0,47 \pm 0,02$	Пластины неправильной формы с закругленными краями

\*В случае метанола концентрация была 6,25 г/л.

(37,5 и 50 г/л) наблюдается образование вытянутых пластин, часто агрегированных. Форма частиц, микронизированных из ДМФА, изменяется от игольчатых кристаллов, наблюдаемых при концентрации 1 г/л (рис. 2 *з*), до пластин неправильной формы с неровными краями при концентрации 16,5 г/л (рис. 2 *е*). Данные о размерах и морфологии частиц МФ, получаемых при различных концентрациях МФ в растворе, приведены в таблице 2.

На рис. 3 представлена зависимость среднего размера частиц от концентрации МФ в растворе при осаждении методом SAS из ДМСО, ДМФА и уксусной кислоты. Для всех растворителей на графике данной зависимости присутствует область уменьшения размера частиц с ростом концентрации. Причем для ДМФА размер частиц при увеличении концентрации от 1 до 12,5 г/л уменьшается почти на порядок, тогда как для ДМСО и уксусной кислоты такое уменьшение выражено гораздо слабее. Для этих двух растворителей минимум на концентрационных кривых наблюдается при концентрации МФ 25 г/л. Для ДМФА, в котором растворимость МФ гораздо ниже и составляет около 20 г/л, область увеличения



**Рис. 2.** Микрофотографии (СЭМ) образцов МФ, микронизированного из ДМСО при концентрациях 1 (*а*), 25 (*б*) и 50 г/л (*в*) и из ДМФА при концентрациях 1 (*з*), 12,5 (*д*) и 16,5 г/л (*е*)

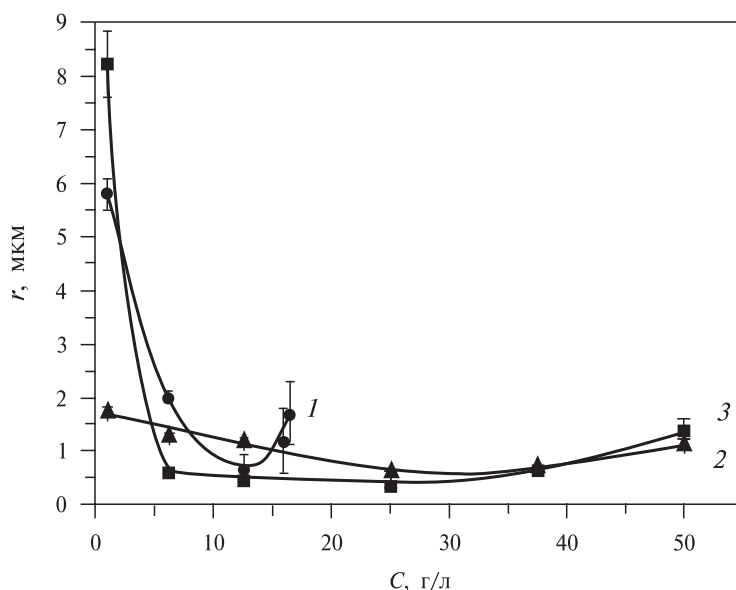
Таблица 2

**Средний размер и морфология частиц МФ, получаемых при микронизации из ДМФА, ДМСО и уксусной кислоты при различных концентрациях МФ в растворе**

Растворитель, использованный при микронизации	Концентрация МФ при микронизации, мг/мл	Размер частиц, мкм	Морфология
Исходный МФ	—	8,0 ± 0,5	Призматические пластинки
ДМФА	1	5,8 ± 0,3	Игольчатые кристаллы
ДМФА	6,25	2,0 ± 0,1	Сильно вытянутые параллелепипеды
ДМФА	12,5	0,67 ± 0,20	Многоугольные частицы (слабо анизотропные)
ДМФА	16,5	1,7 ± 0,5	Многоугольные пластины с неровными краями
ДМСО	1	1,7 ± 0,1	Многоугольные пластинки с закругленными краями
ДМСО	6,25	1,26 ± 0,07	Многоугольные пластины с закругленными краями, часто вытянутые
ДМСО	12,5	1,18 ± 0,07	Вытянутые формы, близкие к параллелепипедам
ДМСО	25	0,59 ± 0,03	Многоугольные пластины с закругленными краями
ДМСО	37,5	0,71 ± 0,02	Вытянутые пластины и формы, близкие к параллелепипедам
ДМСО	50	1,1 ± 0,1	Вытянутые пластины, часто агрегированные
Уксусная кислота	1	8,2 ± 0,6	Вытянутые формы, близкие к параллелепипедам
Уксусная кислота	6,25	0,58 ± 0,03	Многоугольные пластины с неровными краями (слабо анизотропные)
Уксусная кислота	12,5	0,47 ± 0,02	Многоугольные пластины неправильной формы, иногда вытянутые
Уксусная кислота	25	0,33 ± 0,02	Многоугольные пластины (слабо анизотропные)
Уксусная кислота	37,5	0,65 ± 0,03	Многоугольные пластины с неровными краями
Уксусная кислота	50	1,4 ± 0,2	Многоугольные пластины с неровными краями

среднего размера частиц с ростом концентрации наблюдается при приближении к пределу растворимости МФ при концентрации 16,5 г/л.

Наличие минимума на кривых зависимости среднего размера частиц от концентрации препарата в органическом растворителе при микронизации методом SAS наблюдался нами ранее для арбидола [12]. Вероятно, его существование связано со следующими причинами: в области низких концентраций при смешивании раствора и СК-СО<sub>2</sub> степень пересыщения мала и, соответственно, мала ско-



**Рис. 3.** Зависимость среднего размера частиц от концентрации МФ в растворе для ДМФА (1), ДМСО (2) и уксусной кислоты (3)

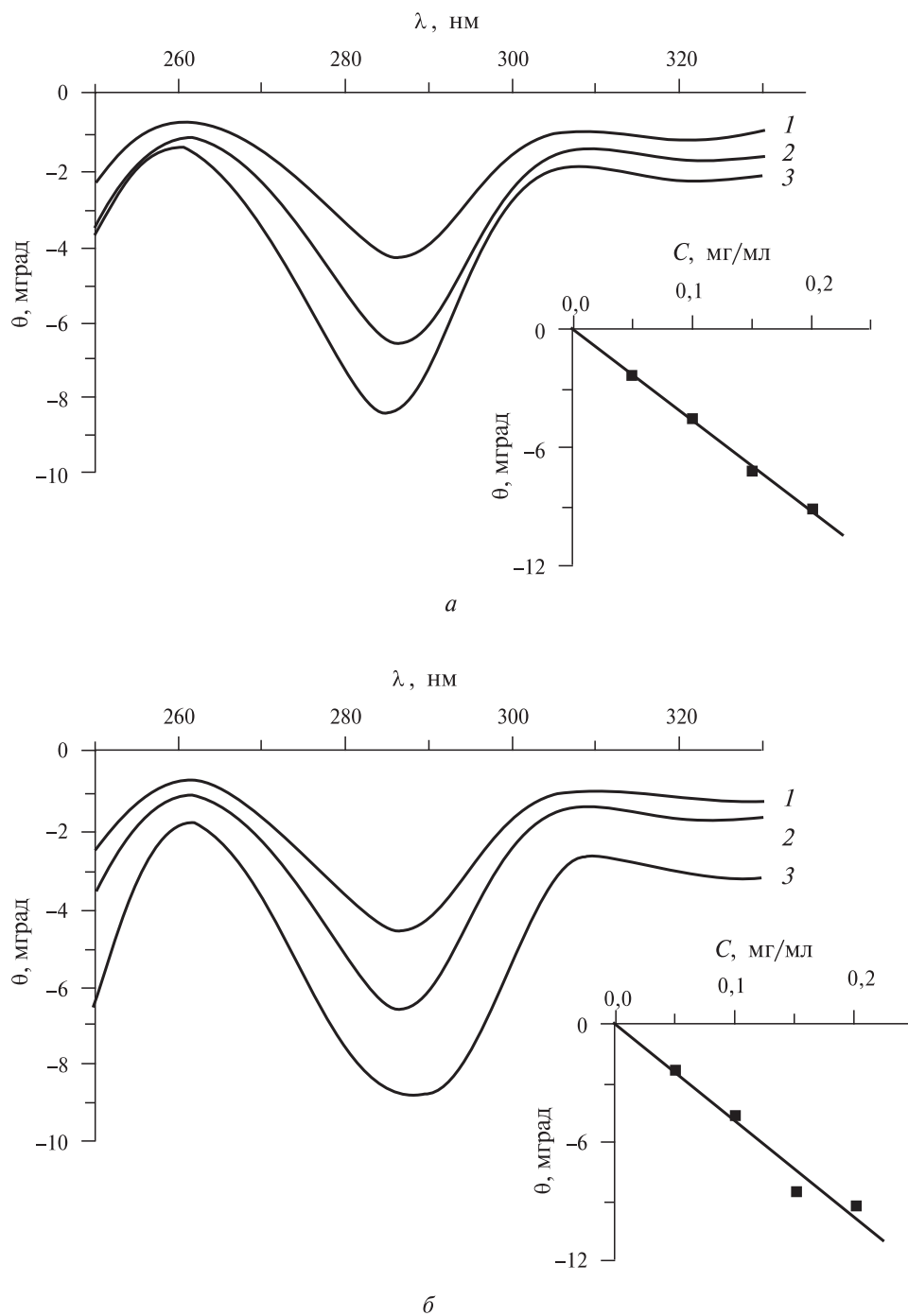
рость зародышеобразования. Скорость роста кристаллов при низких концентрациях микронизируемого вещества в растворе значительно превосходит скорость зародышеобразования, что приводит к образованию преимущественно крупных частиц. При увеличении концентрации мгновенная степень пересыщения при смешении раствора с СК-СО<sub>2</sub> возрастает, соответственно возрастает скорость зародышеобразования, что и приводит к меньшему среднему размеру кристаллов.

После достижения определенного значения концентрации субстанции при приближении к насыщению данного растворителя, по-видимому, происходит изменение процесса кристаллизации. Количество зародышей кристаллов увеличивается; с другой стороны, содержание растворенного вещества достаточно для активного роста всех образовавшихся зародышей. При этом становится возможным срастание растущих зародышей, что приводит к образованию менее ориентированных и менее упорядоченных кристаллов неправильной формы и увеличению среднего размера частиц. В пользу такого предположения свидетельствует наблюдаемое изменение морфологии получаемых при высоких концентрациях частиц (рис. 2), а также тот факт, что зависимость размера частиц от концентрации меняет свой характер. Так, при высоких концентрациях МФ в ДМСО и ДМФА (50 и 16 г/л соответственно) наблюдается изменение морфологии частиц: на СЭМ микрофотографиях отчетливо видны фрагменты, имеющие нерегулярную форму, в ряде случаев — явный вид сросшихся более мелких частиц (рис. 2 в, е).

#### ***Исследование влияния микронизации методом SAS на оптическую активность моксифлоксацина***

Моксифлоксацин представляет собой оптически активный энантиомер, рацемизация которого может приводить к снижению его терапевтической активности. Методом спектроскопии КД исследовано влияние микронизации методом SAS с использованием различных растворителей на оптическую чистоту лекарственной субстанции МФ. На рис. 4 представлены спектры КД исходного МФ в зависимо-





**Рис. 4.** Спектры КД исходного МФ в фосфатном буферном растворе, рН = 7,4 (а) и микронизированного из ДМСО образца (б); концентрации при регистрации спектра: 1 — 0,1 мг/мл, 2 — 0,15 мг/мл, 3 — 0,2 мг/мл; на вставках представлены зависимости эллиптичности при 288 нм от концентрации МФ в растворе

Таблица 3

Удельные значения эллиптичности для образцов МФ, микронизированных из ДМСО и ДМФА, в сравнении с исходным МФ

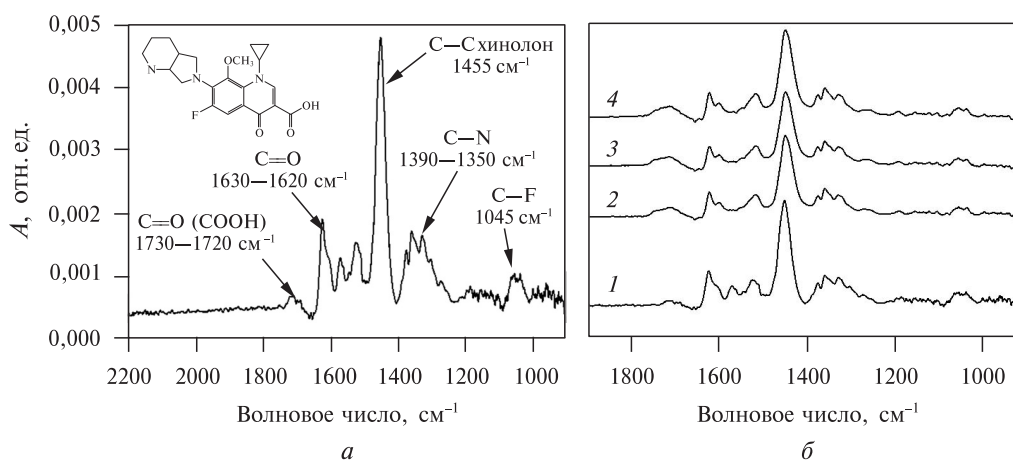
Образец	$[\theta]_{288 \text{ нм}}$ , мград/(мм·мг)
Исходный МФ	48,4 ( $\pm 1$ )
МФ, микронизированный из ДМФА	48,7 ( $\pm 1$ )
МФ, микронизированный из ДМСО	46,3 ( $\pm 1$ )

сти от его концентрации в сравнении с аналогичными спектрами микронизированного образца МФ, полученного с использованием ДМСО в качестве растворителя.

Из приведенных данных следует, что спектры КД при микронизации МФ из ДМСО практически не изменяются. Для количественной характеристики оптической чистоты образцов использовали удельные значения эллиптичности ( $[\theta]_{288 \text{ нм}}$ ), полученные с использованием калибровочных кривых (рис. 4, вставки) для микронизированных образцов и исходного МФ (таблица 3). Они практически совпадают, что свидетельствует о сохранении химической структуры МФ и отсутствии рацемизации МФ при микронизации методом SAS.

**ИК-спектры моксифлоксацина и его микронизированных форм**

Для более детального исследования возможного влияния микронизации МФ с использованием различных растворителей на химическую структуру лекарственной субстанции было проведено сравнение ИК-спектров микронизированных образцов МФ и исходного (рис. 5). Идентификация спектральных полос была проведена на основе литературных данных [16—18]. Поскольку молекула МФ имеет весьма сложную структуру, то большинство полос невозможно идентифицировать однозначно, так как имеет место наложение разных типов колебаний. Для аналитических целей наибольший интерес представляют полосы  $1730\text{—}1720 \text{ см}^{-1}$  и  $1622\text{—}1610 \text{ см}^{-1}$ , которые соответствуют валентным колебаниям  $\text{C}=\text{O}$  связи ( $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  в  $\text{COOH}$  и  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  в карбоксильной и карбонильной группе хинолона соответственно; группа полос  $1550\text{—}1500 \text{ см}^{-1}$  и  $1455\text{—}1440 \text{ см}^{-1}$ , соответствующая валентным колебаниям связи  $\text{C}=\text{C}$  ароматической структуры МФ с наложением деформационных колебаний связей  $\text{C}-\text{H}$  ( $\nu_{\text{C}=\text{C}} \text{ Ar} + \delta_{\text{CH}} + \delta_{\text{CH}_2} + \delta_{\text{CH}_3}$ ); группа полос  $1396\text{—}1350 \text{ см}^{-1}$ , соответствующая валентным колебаниям связи  $\text{C}-\text{N}$  и деформационным колебаниям  $\delta_{\text{O}-\text{H}}$  в  $\text{COOH}$ , а также полоса  $1045\text{—}1030 \text{ см}^{-1}$ , соответствующая валентным колебаниям связи  $\text{C}-\text{F}$ . Указанные полосы являются наиболее сильными и слабо маскируются другими полосами. Данные полосы поглощения основных функциональных групп наблюдаются в ИК-спектре МФ как в водной суспензии, так и в твердом состоянии (в порошках), но их относительные интенсивности и точное положение отличаются вследствие различий в агрегатном состоянии и степени гидратации. Так, по сравнению с твердофазным состоянием в ИК-спектре МФ в водном растворе относительная интенсивность полосы при  $1455\text{—}1440 \text{ см}^{-1}$ , отвечающей  $\nu(\text{C}=\text{C})\text{Ar}$ , возрастает при переходе в водный раствор. Интенсивность полос карбонильной и карбоксильной группы, напротив, снижается за счет образования водородных связей в результате гидратации.



**Рис. 5.** *a* — ИК-спектр МФ (4 мг/мл) в фосфатном буферном растворе, pH = 7,4; *б* — ИК-спектры МФ: исходного (кривая 1) и микронизированного из ДМСО (кривая 2), ДМФА (кривая 3), уксусной кислоты (кривая 4); концентрация МФ при микронизации 12,5 г/л

ИК-спектры сухих порошков микронизированных форм МФ идентичны исходному. Данный факт свидетельствует о том, что обработка методом SAS не оказывает влияния на химическую структуру молекулы, а также о том, что полученные частицы МФ не содержат следов использованных для проведения SAS органических растворителей (предел обнаружения растворителей оценивается как 0,2 %).

Однако в отличие от спектров сухих порошков в ИК-спектрах водных суспензий МФ и его микронизированных форм проявляются небольшие отличия (рис. 5 *б*), которые с наибольшей вероятностью обусловлены различием в состоянии гидратации молекул МФ (исходного и микронизированного). Это связано с увеличением доли доступной для растворителя поверхности при уменьшении размера частиц (в 4–10 раз) в результате проведения микронизации МФ. В первую очередь следует отметить смещение полосы поглощения ароматической структуры хинолона ( $\nu_{C=C}$  Ar) в сторону меньших волновых чисел (с  $1450\text{ см}^{-1}$  до  $1448\text{ см}^{-1}$ ), а также низкочастотный сдвиг полосы поглощения карбонильной группы хинолона при  $1622\text{ см}^{-1}$  в область меньших волновых чисел (до  $1620\text{ см}^{-1}$ ), сопровождающийся снижением интенсивности.

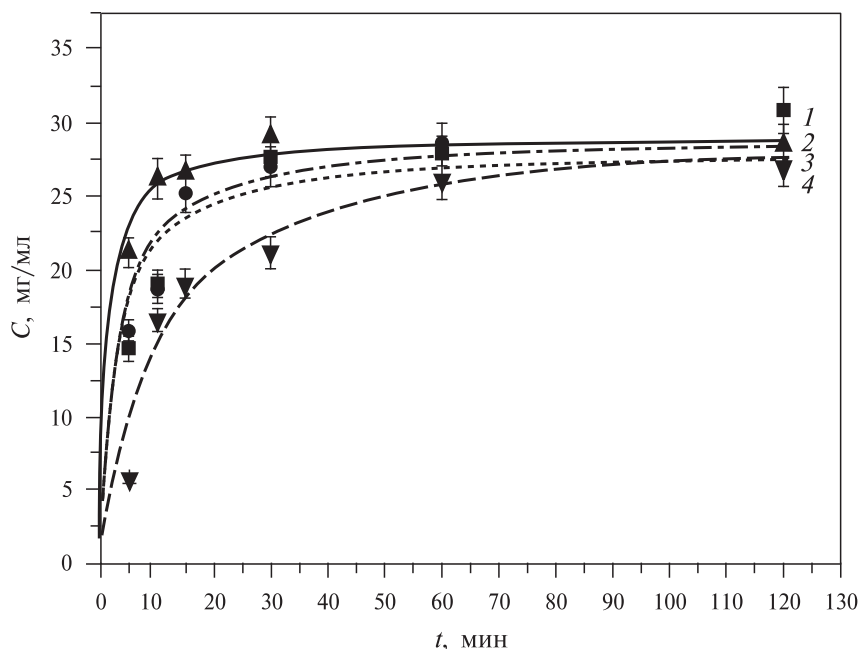
На более высокую степень гидратации микронизированных образцов МФ в водной суспензии указывает также изменение в ИК-спектрах МФ при переходе от твердой фазы к водной суспензии МФ. Так, в сухом порошке МФ (в наименее гидратированном состоянии) полоса поглощения ароматической структуры хинолона ( $\nu_{C=C}$  Ar) находится при  $1452\text{ см}^{-1}$ . В водной суспензии данная полоса смещается в низкочастотную область и наблюдается при  $1450\text{ см}^{-1}$ ; в случае микронизированного МФ в водной суспензии рассматриваемая полоса регистрируется при  $1448\text{ см}^{-1}$ . Напротив, смещение рассматриваемой полосы в высокочастотную область является характерным явлением, наблюдаемым для фторхинолонов при включении их в гидрофобное окружение, что отмечается, например, в работе [19]. Полоса поглощения карбонильной группы МФ (которая способна участвовать в образовании водородных связей с водой) при переходе от твердого порошка к водной суспензии смещается в низкочастотную область и наблюдается при  $1622\text{ см}^{-1}$  для МФ и при  $1620\text{ см}^{-1}$  в случае микронизированных образцов,

что также указывает на увеличение содержания гидратированных молекул в водных суспензиях микронизированного МФ по сравнению с исходным. Данный фактор, несомненно, будет являться определяющим в плане влияния микронизации методом SAS на растворимость МФ.

#### **Исследование влияния микронизации на кинетику растворения моксифлоксацина**

Одной из наиболее важных характеристик разрабатываемых лекарственных форм является скорость растворения действующей субстанции в модельных средах, которая существенным образом влияет на биодоступность и фармакокинетические свойства лекарства. В работе исследовано влияние микронизации МФ на растворимость МФ в фосфатном буферном растворе при физиологическом значении  $pH = 7,4$ . Примеры кинетических кривых растворения МФ, микронизированного из ДМСО, в сравнении с исходным МФ представлены на рис. 6. В качестве количественной характеристики скорости растворения использовали угол наклона на начальном участке соответствующей кинетической кривой. Обнаружено, что для всех исследованных микронизированных образцов скорость растворения в слабощелочной среде существенно выше по сравнению с исходным МФ. Наибольшую скорость растворения демонстрирует МФ, микронизированный из ДМФА (кривая 1). Скорости растворения МФ, кристаллизованных из ДМСО и уксусной кислоты (кривые 2 и 3), сравнимы между собой и также больше по сравнению с исходным МФ (кривая 4).

Среди микронизированных образцов МФ наблюдается необычная зависимость скорости растворения от размера частиц: с увеличением размера частиц



**Рис. 6.** Кинетические кривые растворения в фосфатном буферном растворе при  $pH = 7,4$  и  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  МФ, микронизированного из ДМФА (кривая 1), ДМСО (кривая 2) и уксусной кислоты (кривая 3), в сравнении с исходным МФ (кривая 4). Концентрации при микронизации (12,5 г/л)

Таблица 4

Скорость растворения МФ и его микронизированных форм и их характеристики

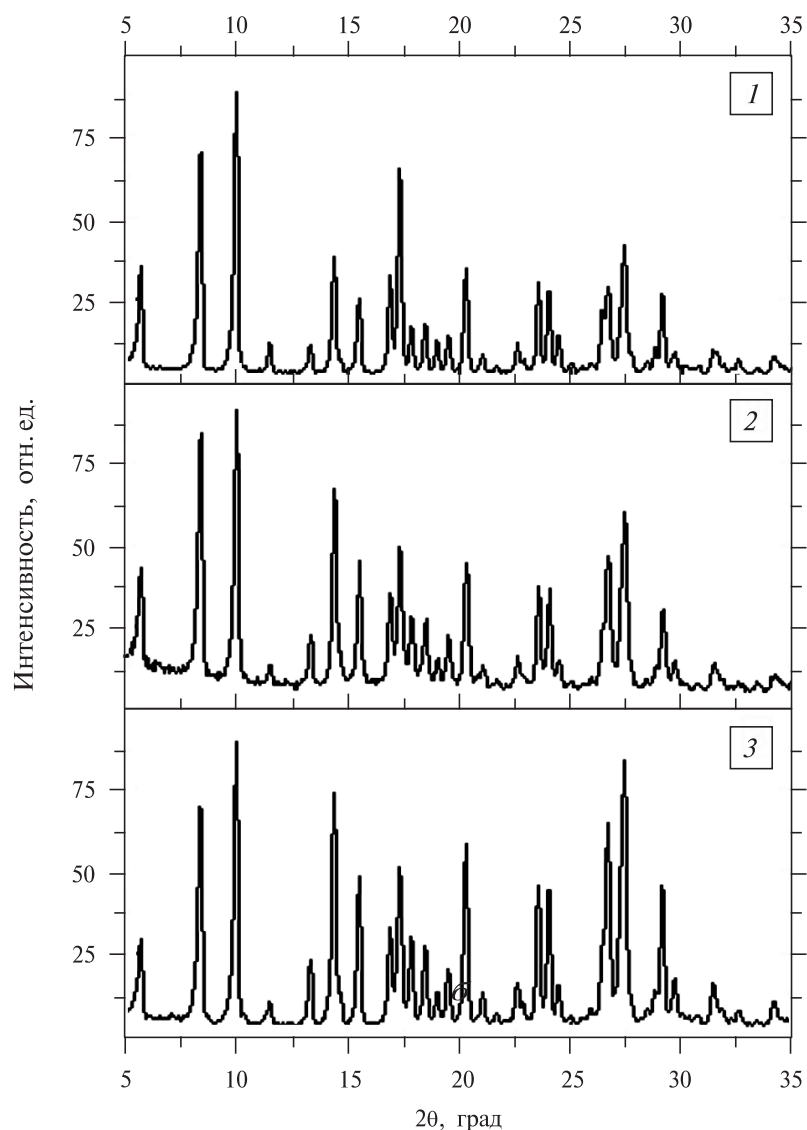
Растворитель	Концентрация МФ при микронизации, мг/мл	Размер частиц, мкм	X*
—	—	8,22	6±1
ДМФА	1,0	5,8±0,3	27±1
ДМФА	6,25	2,0±0,1	16±1
ДМФА	12,5	0,67±0,03	10±1
ДМФА	16,5	1,7±0,5	20±1
ДМСО	1,0	1,7±0,1	21±1
ДМСО	6,25	1,26±0,07	21±1
ДМСО	12,5	1,18±0,07	20±1
ДМСО	25,0	0,59±0,03	17±1
ДМСО	37,5	0,71±0,02	18±1
ДМСО	50,0	1,1±0,1	23±1

\*X — скорость растворения в мг/мл за 5 мин.

скорость растворения увеличивается (таблица 4). Так, для образцов МФ, микронизированных из ДМФА, минимальная скорость растворения (10 мг/мл за 5 мин) наблюдается у образца с наименьшим размером частиц 0,67 мкм, в то время как для образца с размером частиц 6,23 мкм наблюдается растворение 27 мг/мл за 5 мин (таблица 4). В случае ДМСО зависимость скорости растворения микронизированного МФ от размера частиц выражена менее отчетливо. Частицы размерами 0,6—0,7 мкм растворяются примерно с одинаковой скоростью, лежащей в пределах 17—18 мг/мл за 5 мин. При повышении размера частиц до 1,6 мкм скорость растворения увеличивается до 20—21 мг/мл за 5 мин. Следует отметить, что в случае МФ, микронизированного из ДМСО, морфология и размер микрочастиц также слабо зависят и от концентрации МФ в ДМСО (рис. 2).

Наблюдаемая взаимосвязь между условиями микронизации, размером частиц и скоростью их растворения может быть связана с изменением механизма формирования частиц и, как следствие, морфологии частиц и, возможно, степени их кристалличности. Для выяснения этого предположения изучена взаимосвязь скорости растворения и кристалличности микронизированных препаратов методом рентгенофазового анализа (РФА). На рис. 7 представлены рентгенограммы образцов МФ, характеризующихся наибольшей и наименьшей скоростью растворения, полученных из ДМСО (50 г/л и 25 г/л), в сравнении с исходным образцом МФ.

Обнаружено, что при микронизации МФ из растворов ДМСО расположение пиков в РФА рентгенограмме остается прежним, что свидетельствует о том, что МФ не подвергается переходу в другую полиморфную модификацию. При этом для микронизированных форм, образующихся из растворов МФ с высокой концентрацией (50 г/л в ДМСО), в рентгенограммах наблюдается



**Рис. 7.** Рентгенограммы порошков образцов МФ: исходного (1) и микронизированных из ДМСО при концентрациях 50 г/л (2) и 25 г/л (3)

появление «гало» (в области  $< 15$  град.), что свидетельствует о наличии аморфной фазы в данном образце. По-видимому, этот эффект наряду с другими факторами, такими как размер и морфология частиц, является одной из причин наблюдаемого увеличения скорости растворения в результате микронизации методом SAS. Следует отметить, что появление аморфной фазы при проведении микронизации методом SAS наблюдалось также для других лекарственных субстанций, в частности, для таксифолина, микронизированного из раствора в этаноле, что, как и в случае МФ, приводило к существенному повышению растворимости образцов [20].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показана возможность получения микрочастиц моксифлоксацина методом сверхкритического антисольвентного осаждения. Морфология и размер получаемых частиц зависят от растворителя и концентрации МФ в растворе. Микронизация МФ методом SAS повышает скорость растворения МФ в средах с физиологическим значением pH = 7,4 на 20—30 % по сравнению с исходным МФ. Скорость растворения микронизированных образцов МФ зависит от типа растворителя и концентрации исходного раствора, используемого в процессе SAS, и определяется размером и морфологией частиц, получаемых при микронизации. Обнаруженные в работе закономерности формирования микрочастиц МФ методом SAS будут использованы для разработки новых лекарственных форм МФ с улучшенными фармакокинетическими характеристиками.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 15-13-00063.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cozarelli N.R. Science. 1980. Vol. 207. P. 953.
2. Schmitz F., Hofmann B., Hansen B., Scheuring S., Lückefahr M. J. Antimicrob. Chemother. 1998. Vol. 41. P. 481.
3. Bryskier A. J. Lowther. 2002. P. 233.
4. Gillespie S.H. Eur. Respir. Rev. 2016. Vol. 25. P. 19.
5. Fouad M., Gallagher J.C. Ann. Pharmacother. 2011. Vol. 45. P. 1439.
6. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Фторхинолоны. М.: Биоинформ, 1995. 208 с.
7. Bertino J. Jr., Fish D. Clin. Ther. 2000. Vol. 22. P. 798.
8. Лунин В.В., Локтева Е.С. «Зеленая» химия в России. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2004. С. 10.
9. Pasquali I., Bettini R. Int. J. Pharm. 2008. Vol. 364. P. 176.
10. Moribe K., Tozuka Y., Yamamoto K. Adv. Drug Deliv. Rev. 2008. Vol. 60. P. 328.
11. Tai H., Popov V.K., Shakesheff K.M., Howdle S.M. Biochem. Soc. Trans. 2007. Vol. 35. P. 516.
12. Воробей А.М., Покровский О.И., Устинович К.Б., Кротова Л.И., Паренаго О.О., Лунин В.В. СКФ-ТП. 2015. Т. 10. № 2. С. 51.
13. Bagratashvili V.N., Egorov A.M., Krotova L.I., Mironov A.V., Panchenko V.Ya., Parenago O.O., Popov V.K., Revelsky I.A., Timashev P.S., Tsygina S.I. Russian J. of Phys. Chem. B. 2012. Vol. 6. No. 7. P. 804.
14. Баграташвили В.Н., Богородский С.Э., Егоров А.М., Кротова Л.И., Попов В.К., Севастьянов В.И. СКФ-ТП. 2015. Т. 10. № 3. С. 26.
15. Кудряшова Е.В., Дейген И.М., Суховерков К.В., Филатова Л.Ю., Клячко Н.Л., Воробей А.М., Покровский О.И., Устинович К.Б., Паренаго О.О., Антонов Е.Н., Дунаев А.Г., Кротова Л.И., Попов В.К., Егоров А.М. СКФ-ТП. 2015. Т. 10. № 4. С. 52.
16. Дейген И.М., Егоров А.М., Кудряшова Е.В. Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2015. Т. 56. № 3. С. 387.
17. Sahoo S., Chakraborti C.K., Mishra S.C., Nanda U.N., Naik S. J. Pharm. Res. 2011. Vol. 4. P. 1129.
18. В.Л. Дорофеев. Хим.-фарм. журнал. 2004. Т. 38. С. 45.
19. Dsugi N.F.A., Elbashir A.A. Spectrochim. Acta. Part A: Mol. and Biomol. Spectroscopy. 2015. Vol. 137. P. 804.
20. Zu S., Yang L., Huang J., Ma C., Wang W., Zhao C., Zu Y. Int. J. Mol. Sci. 2012. Vol. 13. P. 8869.

**MICRONIZATION OF MOXIFLOXACIN BY SUPERCRITICAL  
ANTISOLVENT PRECIPITATION**

**<sup>1</sup>E.V. Kudryashova, <sup>1</sup>K.V. Sukhoverkov, <sup>1</sup>I.M. Deygen, <sup>1,2</sup>A.M. Vorobei,  
<sup>2</sup>O.I. Pokrovskiy, <sup>1,2</sup>O.O. Parenago, <sup>3,4</sup>D.E. Presnov, <sup>1,5</sup>A.M. Egorov**

<sup>1</sup>*Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of RAS, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Department of Physics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

<sup>4</sup>*Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University,  
Moscow, Russia*

<sup>5</sup>*Russian Medical Academy of Postgraduate Education of the Ministry of Health  
of the Russian Federation (RMAPE), Moscow, Russia*

For the development of new dosage forms of moxifloxacin (MF) (antibacterial medication of fluoroquinolons group) Supercritical Antisolvent Precipitation method (SAS) is applied. SAS provides with the formation of particles of sizes ranged from 0.6 to 8 microns and of various morphologies (from thin polygonal plates to oblong parallelepipeds). Studies of micronized samples using FTIR and circular dichroism spectroscopies showed that micronization does not cause any changes in chemical structure of MF or its racemization. Micronization of MF has a significant effect on the rate of its dissolution in physiological solution at pH = 7.5: the dissolution rate of micronized MF is 20–30 % higher compared to the original MF; it is determined by the sample particle size, morphology and degree of crystallinity/amorphousness. The obtained data will be used to develop new formulations of MF for the treatment of drug-resistant forms of tuberculosis.

**Key words:** moxifloxacin, SCF-micronization, supercritical antisolvent precipitation (SAS), FTIR, circular dichroism spectroscopy, rate of dissolution.

---

---