Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«ИНСТИТУТ НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ им А. В. Николаева СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

Богданова Екатерина Геннадьевна

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ ДИСПЕРСНЫХ ФАЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛАТРАТООБРАЗОВАНИЯ В СИСТЕМАХ «ВОДА – ОРГАНИЧЕСКИЙ РАСТВОРИТЕЛЬ»

02.00.21 химия твердого тела

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, профессор
Болдырева Елена Владимировна

Новосибирск 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ **6**

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР. ЗНАЧЕНИЕ И МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ТВЕРДЫХ ВЕЩЕСТВ В ДИСПЕРСНОМ СОСТОЯНИИ. **11**

1.1 Измельчение 13

1.2 Кристаллизация заменой растворителя 14

1.3 Распылительная сушка 15

1.4 Сверхкритические флюиды 17

1.5 Получение многокомпонентных дисперсных систем 18

1.6 Сублимационная (лиофильная) сушка 20

1.7 Обзор методов исследования процессов, происходящих при замораживании и последующем отжиге замороженных растворов, применяемых для определения оптимальных параметров процессов сублимационной сушки 25

1.8 Примеры фазовых диаграмм систем легкокипящая жидкость - вода 31

ЗАКЛЮЧЕНИЕ **34**

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ **35**

2.1. Исходные субстанции и растворители 35

2.2. Исследование процессов, происходящих при отжиге замороженных растворов: определение температурных режимов сушки. 35

2.2.1. Приготовление образцов 35

2.2.1.1. Система парацетамол-ТГФ-H_2O 35

2.2.1.2. Система глицин – ТГФ - H_2O 35

2.2.1.3. Система NaCl- H_2O 35

2.2.1.4. Система этиловый спирт-H_2O 36

2.2.1.5. Система *трет*-бутиловый спирт-H_2O 36

2.2.1.6. Система ТГФ-*трет*-бутиловый спирт-H_2O 36

2.2.1.7. Система ибупрофен-ацетон-вода и ибупрофен-1.4-диоксан-вода 37

2.2.2. Порошковая дифрактометрия in situ 37

2.2.2.1. Дифракционный эксперимент с использованием синхротронного излучения (T: от -196°C,P = 1 атм.) 37

2.2.2.2. Дифракционный эксперимент с использованием CuK_{α} излучения . 38

2.2.3. КР-спектроскопия при низких температурах 38

2.2.4. Дифференциальный термический анализ 39

2.2.5. ДСК при низких температурах. 40

2.2.6. Сканирующая электронная спектроскопия при низких температурах . 41

2.3. Получение высокодисперсных форм лекарственных веществ, фармацевтических композиций и веществ-носителей 41

2.3.1. NaCl 42

2.3.2. β-Глицин 43

2.3.3. Лактоза 43

2.3.4. Фармацевтические композиции, содержащие сальбутамол или будесонид 43

2.3.4.1. Композиции сальбутамол-глицин и будесонид-глицин с содержанием действующего вещества около 2 масс % 43

2.3.4.2. Композиции сальбутамол-глицин / сальбутамол-лактоза с содержанием действующего вещества около 20 масс % 43

2.3.5. Комбинированные фармацевтические композиции, содержащие сальбутамол и дипропионат беклометазона 44

2.3.6. Ибупрофен 44

2.4. Приготовление прототипов твердых форм для вдыхания 45

2.5. Характеризация образцов 46

2.5.1. Дифракционные методы 46

2.5.1.1. Использование CuK_{α}-излучения 46

2.5.1.2. Использование синхротронного излучения 46

2.5.2. Диффренциальная сканирующая калориметрия (ДСК) и термогравиметрия (ТГА) 46

2.5.3. КР-спектроскопия 47

2.5.4. Сканирующая электронная микроскопия 47

2.5.5. Определение удельной площади поверхности 47

2.5.6. Определение содержания лекарственных веществ в фармацевтических композициях 47

2.5.7. Определение динамики растворения 48

2.5.8. Тесты по определению разрушающего усилия таблеток 48

2.5.9. Определение респирабельной фракции 49

2.5.9.1. Определение респирабельной фракции композиций сальбутамола 50

2.5.9.2. Определение респирабельной фракции композиций будесонида 50

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ **52**

3.1. Разработка метода получения фармацевтических композиций глицин-сальбутамол, лактоза-сальбутамол, глицин-будесонид. 52

3.1.1. Исследование фазообразования в системе NaCl-H_2O 52

3.1.2. Моделирование фазовой диаграммы NaCl-вода в области низких давлений и температур. 53

3.1.3. Исследование фазообразования в системе модельное ЛВ-ТГФ-вода 55

3.1.4. Определение температурных режимов сушки для создания высокодисперсных композиций сальбутамола и будесонида. 56

3.2. Исследование физико-химических свойств фармацевтических композиций, содержащих сальбутамол или будесонид 60

3.2.1. Порошковая дифрактометрия 60

3.2.2. Спектроскопия КР 62

3.2.3. ДСК и ТГ-исследования 65

3.2.4. Морфология и размер частиц 67

3.2.5. Определение респирабельной фракции 71

3.2.6. Изучение фазового перехода 73

3.3. Приготовление готовых форм для вдыхания 76

3.4. Разработка метода получения фармацевтических композиций сальбутамол-дипропионат беклометазона-глицин 79

3.4.1. Исследование системы этиловый спирт-вода 79

3.4.2. Исследование системы *трет*-бутиловый спирт-вода 83

3.4.3. Моделирование фазовых превращений в трехкомпонентной системе ТГФ-ТБС-вода 85

3.4.4. Исследование фазовых превращений в трехкомпонентной системе ТГФ-ТБС-вода 90

3.4.5. Определение температуры основной стадии сушки при использовании растворов ТГФ-ТБС-вода 93

3.5. Исследование физико-химических свойств полученных композиций сальбутамол-дипропионат беклометазона-глицин 96

3.6. Выбор условий сублимационной сушки для получения высокодисперсного ибупрофена 100

3.6.1. Исследование фазовых переходов в замороженных растворах ибупрофен-ацетон-вода 100

3.6.2. Исследование фазовых переходов в замороженных растворах ибупрофен-1.4-диоксан-вода 101

3.7. Свойства, полученных образцов ибупрофена 103

ЗАКЛЮЧЕНИЕ **107**

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ **110**

Список литературы **111**

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Одной из основных задач химии твердого тела является получение твердых веществ с заданными свойствами. Это важно не только с точки зрения фундаментальной науки, но и для создания новых материалов, к числу которых относятся и твердые лекарственные формы. Свойства твердых веществ определяются их кристаллической структурой, размером и формой частиц, способом объединения мелких частиц в более крупные. Такие методы, как измельчение, контролируемая кристаллизация, распылительная сушка, сублимационная сушка и др. позволяют в корне изменить свойства исходной субстанции, оставив при этом без изменений химическую структуру.

Из всех вышеперечисленных, наиболее «мягким» (но и самым затратным) является метод сублимационной сушки, при котором исходный раствор замораживается до низких температур, и затем все операции проводят в условиях вакуума, либо инертного газа. В настоящее время существует разрыв между практическим использованием различных вариантов сублимационной сушки и корректным описанием фазовых превращений, происходящих в системе на разных этапах многостадийного процесса. В этой связи использование диаграмм состояния для контроля за ходом процесса сублимационной сушки многокомпонентных систем становится актуальной задачей.

В данной работе в качестве объектов исследования выбран ряд органических соединений, лекарственных веществ (ЛВ), широко используемых в твердом состоянии для лечения распространенных и социально значимых заболеваний: ибупрофен (современный нестероидный противовоспалительный препарат), сальбутамол, будесонид и дипропионат беклометазона (противоастматические препараты).

Микронизированные субстанции противоастматических ЛВ широко используются для создания порошков для вдыхания, так как частицы диаметром менее 5 мкм способны проникать в легкие человека. Сальбутамол (2-трет-Бутиламино-1-(4-окси-3-оксиметил-фенил)-этанол), будесонид ((11β, 16α)-16,17-(бутилиден-бис(окси)-11,21-дигидроксипрегна-1,4-диен-3,20-дион)) и дипропионат беклометазона (9a-хлор-11b,17a,21-триокси-16b-метил- 1,4-прегнадиен-3,20-диона 17,21-дипропионат) - малорастворимые в воде ЛВ, микронизированные субстанции которых из-за сил когезии и электростатического притяжения агрегируют в агломераты размером до 100 мкм и более. Это сводит на нет все затраты на микронизацию и существенно уменьшает степень проникновения ЛВ в легкие человека. Большой интерес вызывает разработка способов получения комбинированных фармацевтических композиций двух ЛВ

различного механизма действия, соответственно различной химической природы и растворимых в разных растворителях.

Ибупрофен ((RS)-2-(4-изобутилфенил)-пропионовая кислота) нестероидное противовоспалительное средство, обладающее анальгезирующим, противовоспалительным и жаропонижающим действием. Для лекарственных препаратов, имеющих в своем составе активный ингредиент II класса BCS, высвобождение лекарственного вещества из лекарственной формы является лимитирующей стадией попадания их в системный кровоток. Эти вещества являются классическими объектами исследований с целью создания улучшенных лекарственных форм, поскольку именно для них наибольшее значение имеют кристаллическое состояние, размер и морфология частиц исходной субстанции.

Работа выполнялась в соответствии с планами научно-исследовательской работы Института неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН и НОЦ НГУ "Молекулярный дизайн и экологически безопасные технологии" и была поддержана грантами РФФИ (11-03-12114-офи-м-2011, 10-03-00252-а, 12-03-31405 «мол_а»), государственными контрактами Министерства образования и науки РФ (14.740.11.1023, Соглашение № 14.B37.21.1093), интеграционными проектами СО РАН (108 и 109), Департаментом промышленности, инноваций и предпринимательства мэрии г. Новосибирска (Договор № 27-12 от 24.05.2012 о предоставлении субсидии в виде муниципального гранта), грантами Правительства Новосибирской области и ООО «ОПТЭК», стипендией Президента РФ (СП-680.2013.4), а также программой BRHE (CRDF совместно с Министерством образования и науки РФ).

Цель работы - модифицирование физико-химических свойств твердых образцов сальбутамола, будесонида, беклометазона дипропионата и ибупрофена путем создания твердых дисперсных систем и дисперсных форм методом сублимационной сушки растворов лекарственных веществ в смешанных водно-органических растворителях, способных к образованию клатратных гидратов.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

- исследование фазовых превращений в системе глицин-тетрагидрофуран(ТГФ)-вода

- разработка способа получения фармацевтических композиций сальбутамола и будесонида с использованием метода сублимационной сушки, изучение физико-химических свойств полученных образцов

- исследование фазовых превращений в системе «ТГФ - *трет*-бутиловый спирт – вода», построение ТХ-сечения фазовой диаграммы «ТГФ-*трет*-бутиловый спирт – вода»

- разработка способа получения комбинированных фармацевтических композиций сальбутамол-дипропионат беклометазона и изучение их физико-химических свойств

- разработка способов получения дисперсных порошков ибупрофена с использованием метода сублимационной сушки и изучение физико-химических свойств полученных образцов

Научная новизна. В работе впервые:

* получены твердые дисперсные системы сальбутамол - β-глицин, будесонид - β-глицин методом сублимационной сушки замороженных растворов соответствующих компонентов в смешанном растворителе ТГФ-вода. Показано, что получение твердых дисперсных систем, в которых β-глицин выступает в качестве носителя, позволяет увеличить термическую устойчивость β-глицина по отношению к фазовому превращению β-глицин – α-глицин при нагревании.

* обнаружено образование фазы двойного клатратного гидрата в тройной системе ТГФ–*трет*-бутиловый спирт – вода.

* получены твердые дисперсные системы, содержащие сальбутамол и дипропионат беклометазона.

* получены образцы высокодисперсной формы ибупрофена, обладающей лучшей способностью к прессованию и более высокой скоростью растворения по сравнению с исходными субстанциями.

Практическое значение работы. Предложенный в работе подход может быть использован для получения дисперсных порошков, в том числе – дисперсных форм лекарственных веществ с улучшенными свойствами. В ходе работы получен один Патент РФ и положительное решение о получении патента, подано 2 заявки. Получаемые по предложенной методике порошки для вдыхания обладают существенно лучшей способностью проникновения в легкие, а дисперсные формы ибупрофена обладают высокой скоростью растворения. Поскольку предложенный метод опирается на свойства систем «вода - органический растворитель», он достаточно универсален и может быть распространен на любые вещества, растворимые в данном смешанном растворителе.

Защищаемые положения:

- Установлено, что с использованием метода сублимационной сушки растворов сальбутамол-глицин-ТГФ-вода, будесонид-глицин-ТГФ-вода, сальбутамол-дипропионат беклометазона-глицин-ТГФ–*трет*-бутиловый спирт-вода возможно создание твердых дисперсных систем, в которых лекарственное вещество в рентгеноаморфном состоянии распределено между кристаллитами β-глицина
- Получение твердых дисперсных систем, в которых β-глицин выступает в качестве носителя, позволяет увеличить термическую устойчивость β-глицина по отношению к фазовому превращению β-глицин – α-глицин при нагревании
- В системе ТГФ-*трет*-бутиловый спирт – вода происходит образование двойного клатратного гидрата, представляющего собой твердый раствор на базе инкогруэнтноплавящегося клатратного гидрата кубической структуры II
- Порошки высокодисперсной формы ибупрофена, получаемые методом сублимационной сушки, обладают лучшей способностью к прессованию и более высокой скоростью растворения по сравнению с исходными субстанциями.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены и обсуждались на следующих конференциях: IV Молодежной научно-технической конференции «Наукоемкие химические технологии» (Москва, 2011 г, диплом 3 степени за устный доклад), Всероссийской научной конференции молодых ученых «Наука, Технологии, Инновации» (Новосибирск, 2011 г, диплом 1 степени за устный доклад), 50 МНСК «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск, 2012 г), 12th International Conference on Pharmacy and Applied Physical Chemistry (Грац, Австрия, 2012 г), Всероссийской научной молодежной школе-конференции Химия под знаком "Сигма" «Исследования, Технологии, Инновации» (Омск, 2012 г диплом 2 степени за устный доклад), Всероссийской молодежной школе-конференции «Использование синхротронного излучения» (Новосибирск, 2012 г), Международной конференции STRANN-2012 (Санкт-Петербург, Россия, 2012 г), Ежегодной конференции по материаловедению YUCOMAT (Герцег-Нови, Черногория, 2012 г), Конкурсе-конференции молодых ученых ИНХ СО РАН (Новосибирск, 2012), Европейской конференции по вопросам доставки лекарственных веществ в легкие Respiratory Drug Delivery Europe 2013 (Берлин, Германия, 2013 г).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 16 работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 10 тезисов и материалов конференций, получен 1 патент на изобретения и одно положительное решение и отправлены 2 заявки на получение патентов РФ.

Личный вклад соискателя. Автор участвовала в постановке задач, решаемых в рамках диссертационной работы, лично готовила все образцы для экспериментов; проводила основные эксперименты по РФА замороженных растворов; выполняла обработку всех полученных результатов, проводила эксперименты по получению дисперсных порошков. ДТА, ДСК, КР-спектроскопия, СЭМ, определение содержания ЛВ в композициях, определение динамики растворения, респирабельной фракции, тесты по определению разрушающего усилия проводились совместно с соавторами публикаций. Автор принимала участие в интерпретации полученных данных, подготовке статей к публикации и заявок на получение патентов РФ.

Объем и структура работы Диссертация изложена на 120 страницах, содержит 63 рисунка, 11 таблиц. Работа состоит из введения, обзора современной литературы (глава 1), экспериментальной части (глава 2), обсуждения результатов (глава 3), выводов и списка цитируемой литературы (113 наименований).

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР. ЗНАЧЕНИЕ И МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ТВЕРДЫХ ВЕЩЕСТВ В ДИСПЕРСНОМ СОСТОЯНИИ.

Уменьшение размеров частиц приводит к изменению свойств твердых веществ [1,2]. Причинами этого являются, во-первых, увеличение соотношения между долей вещества, приходящейся на поверхность по сравнению с объемом, и, во-вторых, резкое увеличение мест наибольшей кривизны, характеризующихся повышением значения химического потенциала (закон Томсона) [1]. От размера частиц зависят практически все их химические и физические свойства. Например, интенсивность окраски пигментов зависит от размеров частиц. Для получения той же самой интенсивности окраски голубого пигмента $CoAl_2O_4$ в случае частиц размером от 1-15 мкм, необходимо использовать почти чистый порошок, а при использовании частиц диаметром от 10-20 нм, можно применять смесь 2.6 масс.% $CoAl_2O_4$ с полимером. Подобное наблюдается и на примере других красящих веществ: $CoFe_2O_4$, Fe_2O_3, $ZnCo_2O_4$ [3,4]. С точки зрения потребителя, измельчение может привести и к нежелательным эффектам. Острые ребра измельченных частиц пигментов, используемых в декоративной косметике, способны вызывать микро-повреждения кожи. В технологии строительных материалов было показано, что гранулометрический состав цемента существенно влияет на его прочность и на скорость затвердевания клинкера. С уменьшением размеров частиц увеличивается скорость реакции гидратации Ca_3SiO_5 [5]. Существующие марки цемента содержат частицы диаметром менее 40 мкм, причем средний диаметр составляет около 20 мкм.

Одной из областей, для которой микронизация образцов имеет огромное значение, является фармация. В настоящее время около 40% выпускаемых и свыше 70% новых разрабатываемых фармацевтической промышленностью лекарственных веществ (ЛВ) плохо растворимы в воде [2], что ограничивает возможность их применения в качестве лекарственных средств, вследствие плохой смачиваемости и растворимости в биологических жидкостях. Накопленные к настоящему времени знания показывают, что не только биодоступность ЛВ, но и их макроскопические свойства (насыпная плотность, способность к прессованию, сыпучесть и пр.) их твердых форм зависят не только от строения молекулы, но также от размера, морфологии частиц и от кристаллической структуры.

В фармации скорость растворения твердых лекарственных веществ принято описывать законом Noyes-Whitney: $\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{Vh} \times (C_s - C)$, где D-коэффициент диффузии, S-площадь поверхности, V-объем емкости растворения, h-толщина диффузионного слоя, C_s-равновесная концентрация [6]. Из этого уравнения видно, что скорость растворения является функцией от

площади поверхности и, следовательно, размера частиц. Если биодоступность лекарственного вещества лимитируется скоростью его растворения, то уменьшение размеров частиц может существенно увеличить активность действующего вещества. Влияние размера частиц на биодоступность плохо растворимого в воде ЛВ продемонстрировано на рис. 1. В данном исследовании максимальная концентрация ЛВ в плазме крови увеличилась в несколько раз при уменьшении размера частиц от 5 до 0.1 мкм. В работе [8] сравнивали концентрацию даназола (растворимость в воде 10 мкг/мл) в плазме крови, вводимого в 3 формах: суспензия со средним диаметром частиц 169 нм, комплекс даназола с гидроксипропил-β-циклодекстрином и суспензия со средним размером частиц 10 мкм (суспензии наночастиц были получены измельчением в шаровой мельнице с добавлением поливинилпирролидона (ПВП)). Было показано, что концентрация ЛВ в плазме крови после введения суспензии наночастиц и комплекса с циклодекстрином отличается незначительно и на несколько порядков выше содержания ЛВ после введения суспензии исходной субстанции. Таким образом, получение устойчивых суспензий наночастиц лекарственного вещества позволяет преодолеть ограничения, обусловленные низкой растворимостью исходной субстанции.

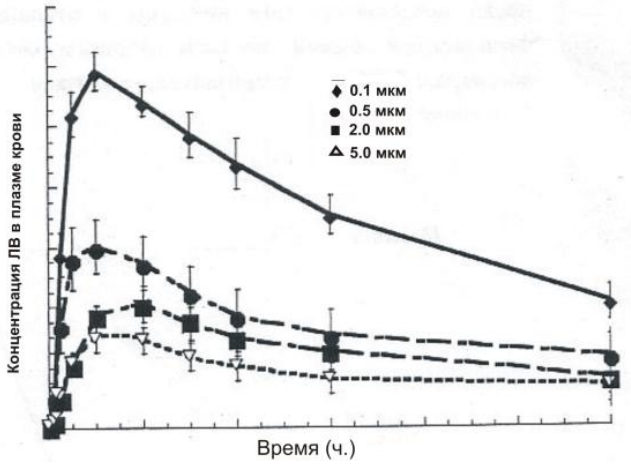

Рис 1. График зависимости концентрации в плазме крови плохо растворимого в воде соединения. Вещество было введено в форме суспензии. Единственным изменяемым параметром был средний размер частиц [7].

Нередко необходимо получить микронизированные образцы в каком-либо инертном носителе, находящемся в твердом состоянии. Такие образцы называют «твердыми дисперсными системами» [9,10]. Получение твердых дисперсных систем позволяет в корне изменить фармакокинетический профиль фармацевтических композиций, содержащих нерастворимые в воде ЛВ.

В данном литературном обзоре рассмотрены основные способы получения микронизированных порошков и многокомопонентных твердых дисперсных систем, используемые как в исследовательских лабораториях, так в промышленности. Проанализированы принципы формирования дисперсного состояния вещества в каждом случае, достоинства и недостатки каждого метода. Большое внимание уделено рассмотрению примеров получения дисперсных фаз методом сублимационной сушки, как наиболее «мягкого» метода из всех существующих.

1.1 Измельчение

В настоящее время механическое измельчение является самым широко распространенным способом получения дисперсных частиц, для чего обычно используют такие аппараты, как дезинтеграторы и шаровые мельницы. В фармацевтической промышленности для микронизации лекарственных субстанций используются струйные и шаровые мельницы, гомогенизаторы высокого давления [11,12,13]. В процессе использования шаровых мельниц возникают проблемы эрозии мелющих тел и, как следствие, загрязнение продукта материалом шаров. Существует высокая вероятность появления бактерий при времени механического воздействия более 24 часов при температурах выше 30°C [11]. Механические способы получения микрочастиц не подходят для дизайна частиц с заданным размером и морфологией.

В промышленности используются также технологии влажного помола, например, процесс, который носит название NanoCrystals® [7]. В данном процессе плохо растворимую в воде субстанцию (размер частиц менее 100 мкм) диспергируют в водном растворе поверхностно-активных веществ (ПАВ) (ПВП, лейцитин), а затем подвергают механическому воздействию мелющими сферическими телами со средним диаметром менее 3 мм. Для получения частиц со средним диаметром около 200 нм требуется около 1 часа. На рис. 2 представлен результат использования технологии NanoCrystals® на примере частиц напроксена ((S)-6-Метокси-альфа-метил-2-нафталинуксусная кислота, растворимость в воде 1.6 мг/100г). Средний размер частиц суспензии уменьшился с 24.2 мкм до 0.147 мкм. Данную технологию используют для производства лекарственных форм в виде суспензий, также возможно приготовление твердых форм после удаления жидкой фазы. Преимуществами данного способа являются: возможность получения микро- и наночастиц ЛВ, не растворимых как в водных, так и органических средах, узкое распределение получаемых частиц по размеру, а также простота масштабирования [11].

Механическое воздействие приводит к возникновению электростатических зарядов и появлению аморфных доменов на поверхности частиц. Домены кристаллизуются, увеличивая размер частиц и образуя мостики между частицами. Реакционная способность аморфных веществ гораздо выше, чем кристаллических. В случае ЛВ это проявляется в увеличении скорости и количества поглощаемой влаги, а также возрастанию константы разложения. Все эти физико-химические аспекты крайне не желательны при разработке новых лекарственных препаратов. Субстанция сальбутамола сульфата, состоящая из кристаллов игольчатой формы длиной до 100 мкм, после механического воздействия в струйной или шаровой мельнице переходит в порошок с диаметром частиц от 2 до 10 мкм, которые агрегированы в ассоциаты с размером до 30 мкм [14]. Авторы определили содержание компонентов в аморфном состоянии

по калибровочным кривым дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), оно составляло до 7 масс. %, этого оказалось достаточно для перекристаллизации и увеличения размеров частиц. В другой работе [15] так же использовали струйную мельницу для микронизации субстанции сальбутамола сульфата. Для начала были получены крупные кристаллы активного фармацевтического ингредиента (АФИ) пластинчатой, а также игольчатой и промежуточной форм. Было показано, что кристаллы различной формы при обработке в струйной мельнице ведут себя по-разному. Исходные образцы игольчатой формы после микронизации показали минимальный размер частиц, что объясняется высоким соотношением длин ребер. После механообработки на дифрактограммах всех образцов заметно поднятие базовой линии, это говорит о присутствии аморфной составляющей.

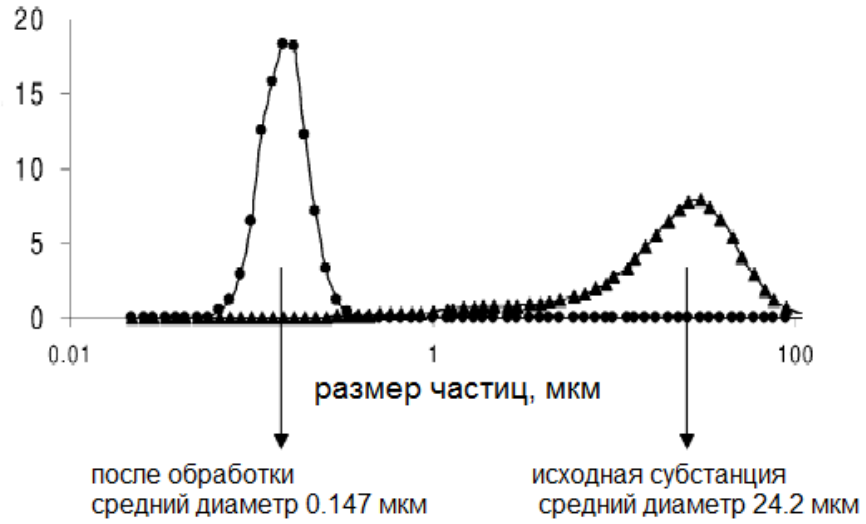

Рис. 2. Профиль распределения частиц по размеру. Кристаллы напроксена до (▲) и после (●) механического воздействия. Размер частиц измеряли методом лазерной дифракцией света [7].

Помимо механического диспергирования для получения дисперсных форм твердых форм ЛВ и их фармацевтических композиций из растворов, расплавов или сверхкритических флюидов используют методы, основанные на резком увеличении скорости зародышеобразования и подавлении скорости роста частиц. Это достигается скачкообразным изменением величин параметров состояния (давления, температуры, состава и др.).

1.2 Кристаллизация заменой растворителя

Коллоидные растворы с частицами ЛВ размерами от 200 до 400 нм получают следующим образом: раствор ЛВ и ПАВ (ПВП, гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ)) в органическом растворителе вводят в водную среду при перемешивании или с использованием распыляющих устройств [16]. За счет резкого снижения растворимости происходит

зародышеобразование и рост частиц ЛВ, а увеличение размеров не происходит благодаря действию стабилизаторов. Для получения порошков используют удаление компонентов растворителя различными методами: упариванием, распылительной или сублимационной сушкой. Существует технология под названием: «испарение и кристаллизация в водном растворе», в иностранной литературе: evaporate precipitation into aqueous solution (EPAS) [17], которая позволяет получать микро- и наночастицы ЛВ с покрытием из стабилизаторов (ПВП, Poloxamer, полисорбат 80 и пр.). В данном процессе раствор лекарственного вещества в дихлорметане или эфире нагревается до температуры выше температуры кипения органической жидкости и распыляется в нагретый водный раствор. Органический растворитель быстро испаряется, а образующаяся при этом водная суспензия затем подвергается сушке.

1.3 Распылительная сушка

Когда речь заходит о получении частиц заданного размера в первую очередь говорят о технологии распылительной сушки [18,19]. Она включает в себя следующие стадии: а) распыление раствора через форсунку, б) сушка образующихся капель в сухом воздухе, в) сбор образца. Данная технология широко используется в фармацевтической, пищевой и биохимической промышленности уже с 1940 годов, имеются как лабораторные установки, так и установки промышленного масштаба. Однако для уменьшения размеров частиц плохо растворимых и не растворимых в воде ЛВ применение распылительной сушки не целесообразно. В настоящее время в научной литературе можно найти большое количество статей посвященных получению частиц как одно- так и многокомпонентных фармацевтических композиций методом распылительной сушки. В основном это связанно с появлением коммерчески доступных лабораторных установок распылительной сушки, простотой эксперимента и наличием математических моделей процесса сушки [18].

Варьирование свойств порошка (размер частиц, морфология, степень кристалличности, уровень влажности) достигается изменением параметров процесса. Увеличение размера частиц происходит за счет увеличения диаметра форсунки, уменьшения скорости подачи распыляющего газа и увеличения концентрации растворенных веществ. Природа исходного раствора влияет на морфологию, а изменение концентрации растворенного вещества и скорости распыления позволяет изменять степень гладкости поверхности частиц. При добавлении наполнителей (лактозы, Твина 20) образуются более шероховатые частицы [18]. Если использовать в качестве исходного раствора суспензию наночастиц ЛВ, то становится возможным получение инкапсулированных наночастиц ЛВ в матрице растворимого в воде носителя.

Производители лабораторных установок распылительной сушки заявляют о получаемом размере частиц от 0.5 до 10 мкм [20], в случае промышленных установок размер увеличивается до 50 мкм [21]. Процесс возможно проводить при температурах от 50 до 120°С в зависимости от используемых растворителей и необходимой влажности.

Образование частиц в процессе распылительной сушки упрощенно делят на 2 варианта [18]. В первом случае скорость диффузионного движения растворенных веществ в капле выше, чем скорость уменьшения ее поверхности. При этом образуются частицы шарообразной формы, а плотность конечного порошка близка к плотности исходного. В другом случае, наоборот, скорость уменьшения поверхности выше, чем скорость диффузионного движения молекул растворенного вещества. Результатом этого являются частицы с полостями внутри, частицы не сферической формы. Схематически этот вариант представлен на рис. 3.

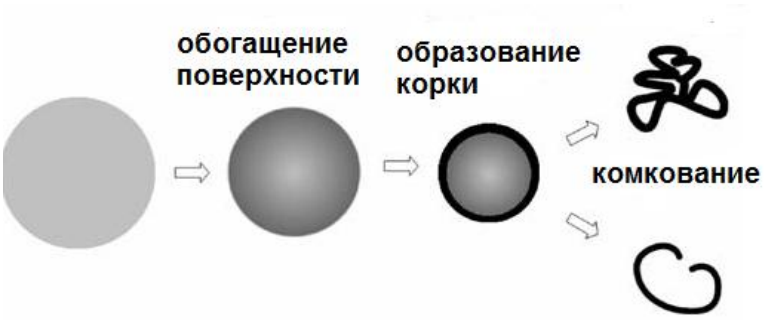

Рис. 3. Иллюстрация образования частиц не сферической формы в процессе распылительной сушки

Если исходный раствор содержит компоненты различной растворимости, то поверхность образующейся частицы будет обогащаться компонентом, который имеет самую низкую растворимость.

Распылительная сушка заключается в очень быстрой кристаллизации, поэтому многие вещества оказываются в аморфном состоянии. Использование аморфных веществ в фармации в настоящее время не получило большого распространения в виду высокой реакционной способности данного состояния. Аморфные вещества подвержены окислительным процессам и поглощают влагу из воздуха в гораздо большей степени, чем кристаллические. Так же высока вероятность кристаллизации под действием внешних факторов: солнечного света, механического воздействия, что приводит к агрегации. Увеличения степени кристалличности можно добиться заменой растворителя [19]. Описаны примеры получения стабильных до 2 лет аморфных порошков для вдыхания, содержащих инсулин, маннитол, цитрат натрия и глицин [22]. При модифицировании композиции глицином происходит существенное уменьшение скорости дегидратации инсулина.

В работе [23] показано, что добавление аминокислот в исходный раствор (растворитель - вода) для распылительной сушки приводит к увеличению дисперсности конечного продукта.

Авторы получили фармацевтические композиции сальбутамола сульфата с лактозой в качестве наполнителя и аминокислотами (аргинин, аспарагиновая кислота, лейцин, фенилаланин, треонин) с содержанием аминокислоты от 5 до 20 масс. %. По данным СЭМ все образцы представляли собой шарообразные частицы с диаметром менее 10 мкм. В случае лейцина и фенилаланина поверхность частиц была шероховатой, с большим количеством неровностей. Это эффект относят к гидрофобной природе данных аминокислот. Так как эти кислоты имеют более низкую растворимость в воде, во время сушки они образуют «корку» на поверхности высыхающей капли и молекулам растворителя сложнее диффундировать к поверхности. В какой-то момент в «корке» образуются трещины, разломы в местах, где вода испаряется. По данным ДСК и РФА все полученные образцы представляют собой аморфные вещества. Изучение аэродинамических характеристик образцов с использованием жидкостного импиджера показало, что параметр «выпущенная доза» (количество ЛВ собранного на всех элементах импактора или импиджера) в случае композиций с лейцином составляет около 95 %, и менее 70 % у образцов, модифицированных остальными аминокислотами. Частицы образца с лейцином не притягиваются электростатическими силами к стенкам капсулы из гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ). Значение параметра «респирабельная фракция» (отношение количества ЛВ предположительно попадающего в легкие человека, к содержанию ЛВ в препарате) порошков с добавлением лейцина (от 50 до 80 % , увеличивается с увеличением содержания лейцина) выше, чем у других образцов. Авторы считают, что в микросферах лейцин концентрируется на поверхности и уменьшает силы когезии между ними, что уменьшает агрегацию частиц.

1.4 Сверхкритические флюиды

Первые сообщения о применении сверхкритического состояния вещества с целью получения дисперсных частиц фармацевтических субстанций появились в 1980е годы [24]. В настоящее время в научном сообществе наблюдается огромный интерес к этому направлению, так как широко используемый флюид CO_2 химически инертен, не токсичен, а также его переход в сверхкритическое состояние происходит при температуре около 31°C и давлении 72,8 атм. Ввиду низкой вязкости (до ~100 раз ниже, чем у жидкостей) и высокому коэффициенту диффузии (в ~100 раз выше, чем у жидкостей) сверхкритический CO_2 считается перспективным растворителем для получения дисперсных частиц.

Технологии с использованием сверхкритического CO_2принципиально подразделяют на 2 типа [24, 25]. Если лекарственное вещество хорошо растворимо в сверхкритическом CO_2, то флюид распыляется в камеру с атмосферным давлением, CO_2 переходит в газообразное состояние и образуются мелкодисперсные частицы субстанции (в англоязычной литературе

rapid expansion of supercritical solutions(RESS))[26]. Низкая растворимость большинства ЛВ в сверхкритическом CO_2 стала причиной редкого использования этой технологии в промышленности. Известен технологический процесс получения наноразмерных фосфолипидных липосом (SuperFluidsTM) со средними размерами около 65 нм. Другой разновидностью технологий получения микро- и наночастиц с использованием сверхкритических флюидов является использование флюидов в качестве осадителей (supercritical antisolvent (SAS), precipitation with a compressed antisolvent (PCA), solution enhanced dispersion by the supercritical fluids (SEDS)) [27]. Насыщенный раствор фармацевтической субстанции в органическом растворителе подается через форсунку в емкость со сверхкритическим флюидом, где в результате резкого падения растворимости субстанция кристаллизуется в виде микро- и наночастиц. Основным минусом использования сверхкритических растворителей является высокая стоимость масштабирования процесса.

Технологии с использованием сверхкритического CO_2 также позволяют получать частицы для доставки ЛВ в легкие. Авторы работы [28] впервые использовали флюидные технологии для получения частиц кортикостероидов для аэрозольного введения. Ими были получены порошки с достаточно узким распределением частиц по размеру со средним диаметром около 1 мкм. В работе [29] раствор сальбутамола распыляли в камеру со сверхкритическим CO_2, в котором сальбутамол не растворим, что обуславливало быстрое зародышеобразование частиц ЛВ. Существенное влияние на морфологию частиц оказывало давление в камере со сжатым CO_2. При давлении в 95 атм. на снимках сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) наблюдались нити, собранные в пучки диаметром в несколько микрон, при давлении более 100 атм. – вытянутые частицы длиной от 1 до 3 мкм. Так же наблюдалось изменение морфологии частиц в зависимости от природы используемого органического растворителя.

Сравнение аэродинамических свойств смесей микронизированного сальметерола ксинафоата с лактозой, показало, что образцы, полученные из сверхкритического CO_2, обладают существенно лучшими показателями в тестах на каскадном импакторе Андерсена, чем образцы с субстанцией, измельченной в струйной мельнице [30]. Данный эффект объясняется низкой насыпной плотностью, меньшей поверхностной энергией частиц из сверхкритичсекого CO_2, их не сферической формой, меньшей силой притяжения частиц к поверхности контейнера, меньшим электростатическим зарядом.

1.5 Получение многокомпонентных дисперсных систем

Описанные выше примеры в большинстве своем касались получения однокомпонентных дисперсных фаз. Тенденция к агрегации может свести на нет все усилия, направленные на

получение дисперсного состояния вещества. Введение наполнителей (носителей) позволяет сохранить дисперсное состояние [9, 31, 32]. Для этого также используют различные приемы.

Первый способ основан на получении эвтектических смесей и заключается в следующем. Рассмотрим простую эвтектическую систему АВ, где А – ЛВ, а В – фармацевтический наполнитель, и компоненты не растворимы друг в друге в твердом состоянии (рис. 4 А). При охлаждении расплава состава С (пунктир) до температуры ниже кривой ликвидуса будут образовываться кристаллы А, которые в дальнейшем при понижении температуры будут расти, за счет уменьшения растворимости А в В. При охлаждении расплава состава эвтектики Е (пунктир), оба компонента А и В одновременно кристаллизуются с образованием очень мелких кристаллов. Впервые эвтектические смеси были получены на примере сульфатиазола (растворимость в воде 63.4 мг/100 г) с различными наполнителями (мочевина, аскорбиновая кислота, ацетамид, сукцинимид) [33]. Смеси индивидуальных веществ с различным соотношением компонентов переводили в жидкое состояние, нагревая выше 100°С, а затем быстро охлаждали в ледяной бане при интенсивном перемешивании. Сравнение скорости выхода сульфатиазола в водный раствор образцов эвтектических смесей со смесями, полученными другими способами, показало, что эвтектические смеси растворяются гораздо быстрее. Позднее было показано [34], что не все ЛВ при охлаждении переходят в кристаллическое состояние, часть может образовывать твердый раствор с наполнителем (рис. 4 Б области α или β), а также находиться в аморфном или стеклообразном состоянии (твердые дисперсии с полимерами [31]). Существенным минусом данного способа является необходимость использования высоких температур выше 100°С, что может привести к термической деструкции как ЛВ, так и наполнителя. Поэтому в 1970 и 1980 гг стал широко использоваться метод получения твердых дисперсных систем из растворов [35]. Для этого необходимо подобрать растворитель, в котором бы растворялись как наполнитель, так и ЛВ. В качестве наполнителей используют полимеры: полиэтиленгликоль (ПЭГ), ПВП, ГПМЦ и другие. Растворитель удаляют распылительной или сублимационной сушкой. Было показано, на примере ПВП, что при малом относительном содержании ЛВ, скорость выхода в раствор зависит от свойств наполнителя, а не от свойств ЛВ [36].

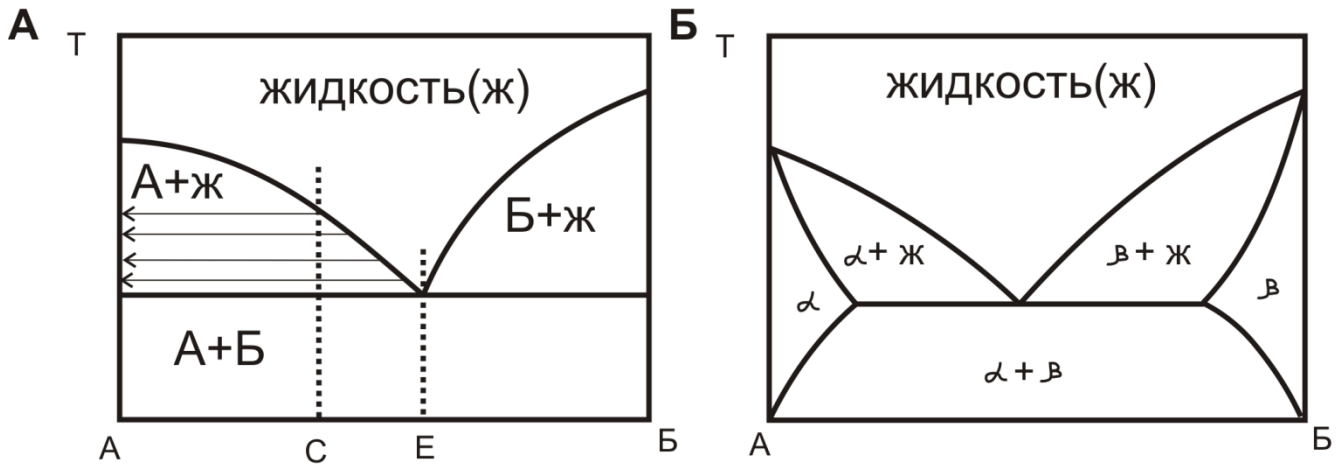

Рис. 4. Примеры фазовых диаграмм двухкомпонентных систем эвтектического типа: А - без образования твердых растворов, Б - с ограниченными твердыми растворами [37].

1.6 Сублимационная (лиофильная) сушка

Среди различных способов сушки, применяемых в фармацевтической промышленности, сублимационная сушка является популярным и стремительно развивающимся технологическим процессом. Причиной тому является, прежде всего, высокое качество получаемых продуктов (повышение стабильности; повышение растворимости/динамики растворения) и незаменимость метода сублимационной сушки для высушивания термолабильных и окисляющихся лекарственных веществ и препаратов растительного/животного происхождения [38, 39, 40].

Первые упоминания в научной литературе о промышленном использовании данного метода относятся к концу 40-х годов XX века [41, 42] и последующие полтора десятка лет ознаменовались широчайшим применением метода сублимационной сушки, главным образом, в пищевой и фармацевтической промышленности. В зарубежных обзорах начала 60-х годов XX века [43, 44] приводятся уже подробные обзоры состояния техники сублимационной сушки и конкретные примеры ее использования для создания самых актуальных в то время лекарственных препаратов - стрептомицина и противотуберкулезной вакцины [45, 46].

В 1955 г. в работе М.И. Вербы (СССР) [46] были проведены подробные экспериментальные исследования тепло- и массопереноса при сублимации льда, результаты которых вошли практически во все монографии, издававшиеся от начала 60-х годов XX века до настоящего времени [47, 48, 49]. Большой вклад в развитие теории сушки (в частности, исследования механизма тепло- и массопереноса при сублимационной сушке) внесли работы советских ученых А.В. Лыкова, А.А. Гухмана, А.С. Гинзбурга и их учеников.

Технологии, включающие замораживание исходных растворов, согласно [50] могут быть подразделены на следующие разновидности: сублимационная сушка (freeze drying) или лиофилизация (lyophilization), распылительная сублимационная сушка (spray freeze drying),

распылительное замораживание в жидкость (spray freezing into liquid) и замораживание тонких пленок (thin film freezing). Их различие заключается в используемом способе замораживания и, соответственно, скорости охлаждения. Движущей силой процесса сублимационной сушки является разность давлений между рабочей камерой и конденсатором, обусловленная разницей температур (рис. 5).

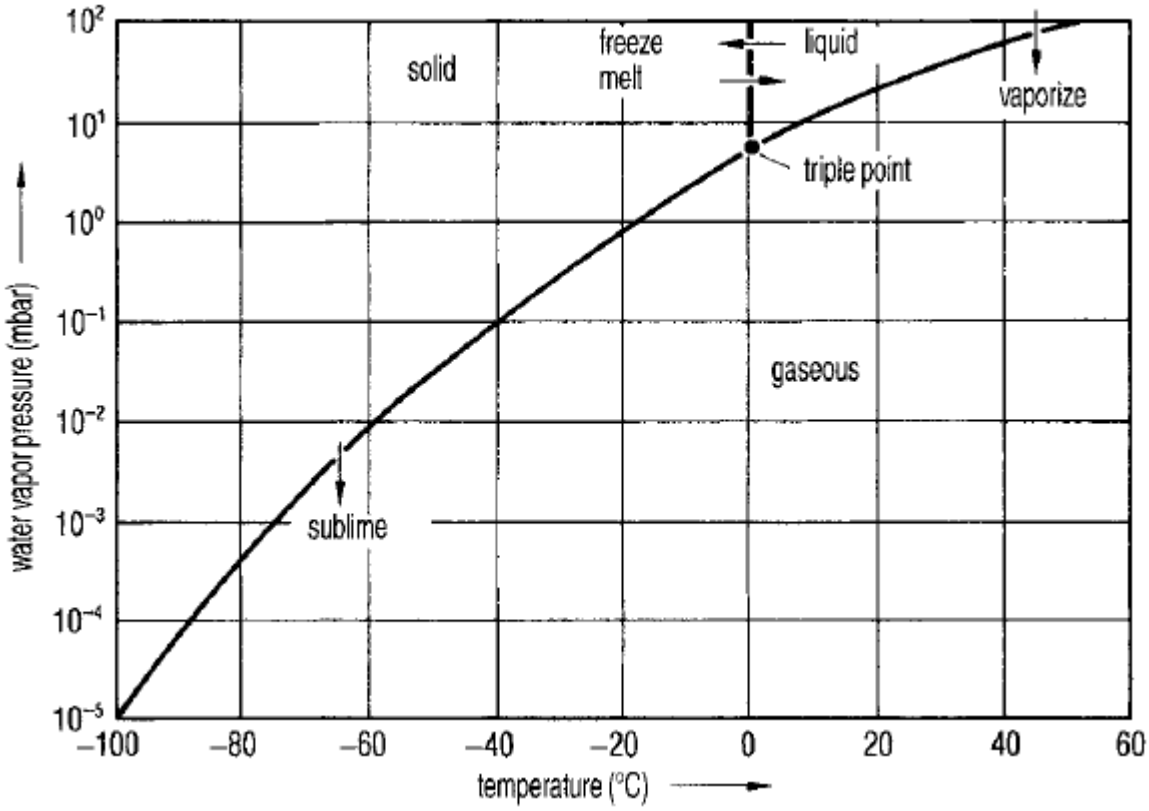

Рис. 5. P-T диаграмма воды в области низких давлений и температур [39].

С использование метода сублимационной сушки получают стабильные аморфные частицы с высокой удельной площадью поверхности и улучшенной скоростью растворения в биологических жидкостях. Причем использование органических растворителей позволяет применять данный подход к улучшению свойств мало растворимых в воде фармацевтических субстанций. Процесс лиофилизации подразделяется на несколько этапов. Стеклянные флаконы, наполненные исходным раствором, помещаются на охлажденную полку (рис. 6 красная кривая, температура полки). Раствор медленно охлаждается со скоростью от 1 до 10 градусов в минуту (рис. 6 зеленая кривая, температура образца), происходит кристаллизация льда, в случае водных растворов, и образование аморфной фазы, которая содержит растворенные вещества и часть растворителя. Затем включается насос, и за счет энтальпии сублимации растворителя образец охлаждается ниже температуры полки. Происходит первая стадия сушки (primary drying), заключающаяся в удалении льда или всех фаз растворителя, не связанных молекулярно с

растворенными веществами. После окончания первой стадии сушки, полки нагревают до комнатной температуры или выше для удаления остаточной влажности (вторичная сушка).

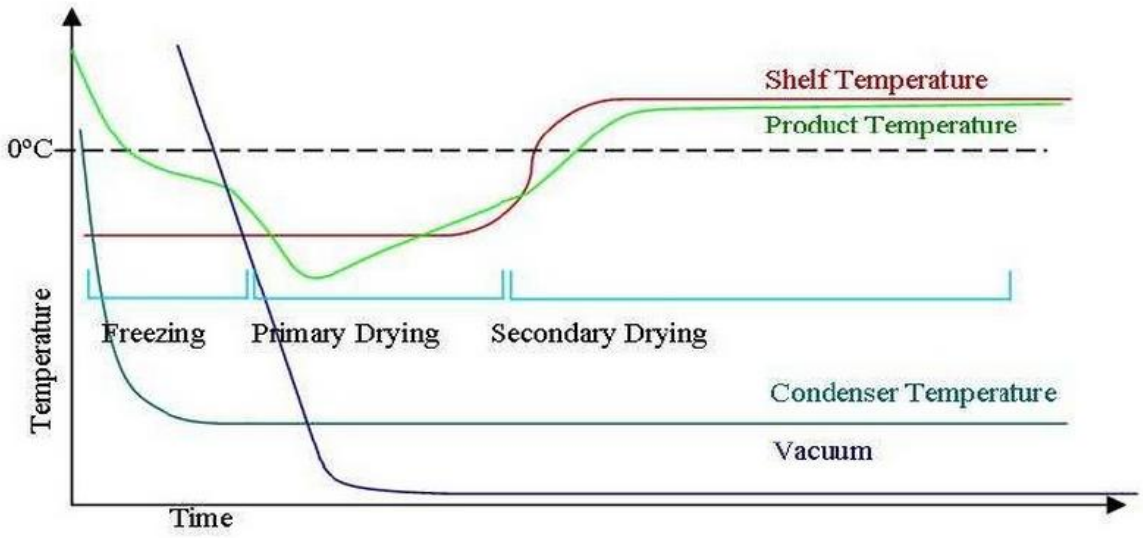

Рис. 6. Типовая кривая сушки.

Поскольку сублимационная сушка является сушкой материала в замороженном состоянии, первой технологической операцией является замораживание материала. В зависимости от технологии сушки может применяться как предварительное замораживание, так и так называемое «самозамораживание» вследствие интенсивного испарения жидкости при непрерывно снижаемом давлении. Данный метод является наилучшим для большинства твердых пищевых продуктов [45], поскольку при этом не происходит образования крупных кристаллов льда, которые могли бы изменить структуру высушиваемого материала. Самозамораживание упрощает технологический процесс и выгодно в энергетическом отношении, так как при замерзании жидкости в материале происходит выделение теплоты плавления льда, которая расходуется на сублимацию, что приводит к уменьшению энергозатрат. Здесь следует особо отметить работы академика Третьякова Ю.Д., его учеников и последователей, по криохимическому получению многокомпонентных веществ и материалов, в частности, по получению ферритовых материалов с криохимической предысторией и сублимационным способам получения ультрадисперсных неорганических солей [48, 49]. В работах той же группы [51, 52] был применен метод сублимационной сушки с использованием других способов замораживания исходного раствора (распылением в емкость с жидким азотом, либо охлаждение раствора жидким азотом с фиксированной скоростью) для получения высокодисперсных форм лекарственных веществ, однако в случае использования этанола в качестве растворителя, в описанных условиях получения высокодисперсных форм лекарственных веществ, высушенный продукт сохраняет свои свойства только благодаря

чрезвычайно низкой растворимости в этаноле при заданной температуре, поскольку сушка происходит, по сути, удалением растворителя испарением в условиях пониженного давления. Работы данной группы по созданию улучшенных лекарственных форм с использованием сушки замороженных растворов в условиях пониженных давлений до недавнего времени являлись единственными примерами работ в этом направлении, проводимых в СССР и России, в отличие от огромного количества работ большого числа исследовательских коллективов по всему миру за последние 20 лет, и значительного количества обзоров и монографий по данной тематике.

В случае медленного охлаждения исходного раствора происходит постепенная кристаллизация растворенных веществ из охлаждаемой жидкости. Это приводит к появлению достаточно крупных частиц. Поэтому была предложена методика распылительной сублимационной сушки (spray freeze drying), которая заключается в распылении исходного раствора над криогенной средой и дальнейшей лиофилизацией. При этом достигаются скорости охлаждения от 10^4до 10^6 градус в минуту в зависимости от размера капель [53]. При использовании в качестве охлаждающей среды изо-пентана ($T_{кип}$=-80°C) скорость охлаждения выше, чем при использовании жидкого азота ($T_{кип}$=-196°C) [48]. В последнем случае вокруг замерзающей капли образуется «шуба» из газообразного N_2. Порошки, полученные распылительной сублимационной сушкой, обладают пористой структурой. Причем возникновение пористости - это прямое следствие используемого способа охлаждения. В случае распылительного замораживания в жидкость форсунка находится над криогенной жидкостью. При замораживании тонких пленок исходный раствор выливается или распыляется на поверхность охлажденной медной пластины или вращающегося диска. Как отмечалось ранее, технологии с замораживанием, в основном, используют для сушки пептидов или лекарственных веществ биологического происхождения [54]. В последнее время их стали применять для получения стабильного аморфного состояния низкомолекулярных веществ в гидрофильной матрице [55]. В таблице 1 представлены данные о существующих промышленных и лабораторных технологиях получения порошков АФИ и их композиций, основанных на замораживании растворов

Таблица 1. Краткое описание технологий, основанных на замораживании растворов, согласно [50].

Технология	**Приблизительная скорость охлаждения (°/с.)**	**Состояние жидкости при замораживании**	**преимущества**	**ограничения**	**Критические параметры процесса**
Лиофилизация (сублимационная сушка)	›1	Раствор находится во флаконе или поддоне, без движения	Широко используется, пригодна для биообъектов, цельный процесс	Только водорастворимые объекты, не подходит для получения высокодисперсных порошков	Температура полки, размер, форма, материал флакона
Распылительная сублимационная сушка	$›10^6$	Капли	Образование микро и наночастиц, очень высокие скорости охлаждения	Высокая поверхность границы раздела раствор/воздух, проблемы с масштабированием, высокая стоимость	Размер капли, отношение скоростей потоков жидкости и криогенной жидкости, температура полки
Распылительное замораживание в жидкость	$›10^3$	Поток жидкости, «разрезание» потока жидкости	Образование микро и наночастиц, нет границы раздела раствор/воздух	Неэффективное распыление форсунками, проблемы с масштабированием, высокая стоимость	Размер капли, отношение скоростей потоков жидкости и криогенной жидкости, температура полки
Замораживание тонких пленок	$›10^2$	Плоские капли	Образование микро и наночастиц, минимальная граница раздела раствор/воздух	Низкое соотношение площадь поверхности/объем	Температура криогенной жидкости, динамика жидкости, отношение скоростей потоков жидкости и криогенной жидкости

1.7 Обзор методов исследования процессов, происходящих при замораживании и последующем отжиге замороженных растворов, применяемых для определения оптимальных параметров процессов сублимационной сушки

Свойства конечного продукта сублимационной сушки во многом зависят от структуры (свойств) замороженного раствора. В настоящее время самыми информативными методами изучения замороженного состояния вещества и процессов, происходящих во время сублимации, являются калориметрические и дифракционные методы [56].

Специалисты в области сублимационной сушки, в большинстве своем, используют метод ДСК для определения температуры стеклования [57]. Температура стеклования – та температура, выше которой вещество находится в жидком или пластичном, в случае сахаров в сиропообразном состоянии, а ниже нее – в стеклообразном. Рассмотрим простую двойную систему растворенное вещество – растворитель. После охлаждения система может представлять собой классическую эвтектическую смесь. Однако может происходить стеклование раствора. Стадию предварительной сушки (удаление основной части растворителя) проводят на 2-5 градуса ниже температуры стеклования раствора, если растворенное вещество после охлаждения находится в стеклообразном состоянии. Если же после охлаждения растворенное вещество находится в кристаллическом состоянии, то первую стадию сушки проводят ниже температуры эвтектики.

Процессы, происходящие в системах неорганическая соль – вода, изучаются во многих областях знаний. В материаловедении стоит задача получения ультрадисперсных частиц неорганических материалов (керамики, взрывчатых веществ) [58], в геологии – изучение процессов происходящих в природных водах [59], а в фармации NaCl используют в композициях в качестве реагента для создания осмотического давления [60].

Академик Третьяков [48], основываясь на данных ДТА, ДСК, ЭПР, ЯМР и рентгенофазового анализа водно-солевых систем выделил три области, в зависимости от скорости охлаждения (рис. 7):

А) при малых скоростях охлаждения (1-5 К/мин) кристаллизация протекает по квазиравновесному типу, то есть происходит одновременная эвтектическая кристаллизация всего раствора,

Б) при скоростях от 5 до 10^4 К/мин в замороженных растворах образуются лед и стеклообразная фаза (соль и часть растворителя),

В) при скоростях $>10^4$ К/мин весь раствор переход в стеклообразное состояние.

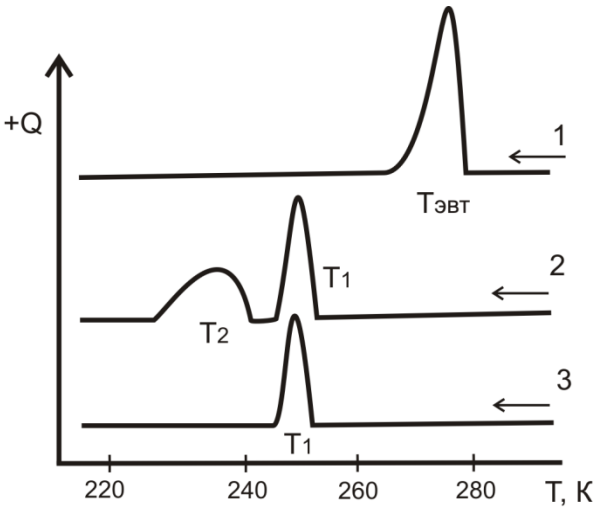

Рис. 7. Кривые ДТА, полученные при замораживании растворов сульфата никеля эвтектической концентрации с различными скоростями охлаждения: 1 -1 К/мин, 2 – 5 К/мин, 3 – 20 К/мин [48].

В пособии [48] отмечено, что предложенные границы областей довольно условны и могут зависеть от химической природы соли, наличия в системе примесей или криопротекторов (например, добавление 1 масс % глицерина в водный раствор привод к его стеклованию при охлаждении вне зависимости от растворенного вещества). Было доказано, что концентрация раствора, образующегося после частичной кристаллизации воды, практически не зависит от начального содержания соли и от скорости охлаждения. Было установлено, что при нагревании криогранулята происходит переход стеклообразной фазы в метастабильную жидкость при температуре, называемой температурой расстекловывания (в терминах лиофильной сушки температура стеклования T_g'). При дальнейшем повышении температуры может происходить кристаллизация жидкой фазы с образованием льда и соответствующего стабильного или метастабильного кристаллогидрата. Особенность криокристаллизации состоит в том, что процесс криокристаллизации соли как таковой протекает при температурах, значительно более низких, чем эвтектические. Для многих систем охлаждение распылением растворов в емкость с жидким азотом не позволяет получить стеклообразное состояние (соли тяжелых щелочно-земельных элементов, хлоридов, сульфатов и нитратов калия и аммония, сульфатов редкоземемельных элементов). Вместе с тем склонны к стеклованию растворы хлорида и сульфата лития, хлоридов переходных элементов и нитратов редкоземельных элементов. Образующиеся в них стеклообразные фазы переходят в метастабильную жидкость, которая при нагреве не кристаллизуется, и необходимы длительные изотермические выдержки для получения кристаллических продуктов.

Лиофильная сушка широко применяется для получения сухих препаратов протеинов. Поскольку многие белки очень чувствительны к изменению pH раствора, широкое

распространение получило использование буферных растворов [56]. Тем не менее, при использовании фосфатного и сукцинатного буфера происходила денатурация белка из-за существенных скачков концентрации ионов водорода. Методами РФА СИ in situ и ДСК были выявлены фазовые превращения, происходящие в указанных замороженных буферных системах. В замороженных растворах сукцинатного буфера с pH=4 с поднятием температуры наблюдалось уменьшение концентрации протонов до pH=8, а затем увеличение до pH=2. Данные изменения были отнесены к последовательной кристаллизации компонентов буфера: янтарной кислоте, мононатриевой соли, динатриевой соли янтарной кислоты. При изучении замороженных растворов с pH=6, было зафиксировано уменьшение pH с последующим увеличением, благодаря кристаллизации компонентов в обратном порядке: динатриевая соль, мононатриевая соль и янтарная кислота. Уменьшение скачков в концентрации протонов было достигнуто уменьшением концентрации сукцинатного буфера. В случае натрий-фосфатного буфера на стадии предварительной сушки происходило увеличение pH находящихся в стеклообразном состоянии компонентов системы из-за кристаллизации гидрата гидрофосфата натрия, который на стадии вторичной сушки дегидратируется, при этом переходя в аморфное состояние. В процессе исследований было найдено оптимальное количество буфера в исходном растворе, исключающее изменение концентрации протонов.

При использовании маннита в качестве наполнителя в растворах для лиофильной сушки наблюдалось растрескивание стеклянных флаконов. Это отнесли к кристаллизации маннита в ходе стадии предварительной сушки. Кристаллизация маннита из стеклообразной фазы замороженного раствора инициировала кристаллизацию льда, плотность которого меньше плотности воды в стеклообразном или жидком состоянии, что приводило к образованию трещин во флаконах. Уменьшения количества треснутых флаконов достигли изменением режима сушки. Температуру полок не опускали ниже -25°C, пока весь маннит не перейдет в кристаллическое состояние. Данное решение стало возможным благодаря изучению фазовых переходов в замороженных растворах маннит-вода дифракционными методами [56].

Смеси растворителей легкокипящая жидкость – вода (вследствие существенного увеличения растворимости исходных субстанций [61]) давно привлекали внимание зарубежных исследователей, занимающихся улучшением растворимости плохо растворимых в воде лекарственных веществ (ЛВ) с использованием различных вариантов лиофильной сушки.

Интересны работы группы профессора P. P. DeLuca, в которых, с использованием метода ДСК, была построена фазовая диаграмма системы трет-бутиловый спирт (ТБС) – вода [62], которая представлена на рис. 8. В системе существуют 2 гидрата: ТБС·$7H_2O$ и ТБС·$2H_2O$ [63]. Методом ДСК были зафиксированы 2 стабильных эвтектических состава, около 20 масс. % и 90 масс % ТБС, а также один метастабильный при нагревании раствора 50 масс. %, однако после

повторного охлаждения последовательные эндопик и экзопик исчезли. Таким образом, в равновесных условиях в системе образуется стабильный гидрат ТБС·$2H_2O$. Авторы показали, что при концентрации 10 масс. % ТБС молекулы воды сублимируются быстрее, при 44 и 80 масс. % быстрее сублимируются молекулы ТБС. При 20 масс. % скорость сублимации молекул одинаковая, поэтому возможно, что молекулы ТБС и воды связаны между собой в определенном соотношении. Как отмечают авторы, добавление ТБС (3-19 масс. %) приводит к образованию игольчатых кристаллов льда, которые после сублимации оставляют пористую матрицу. Благодаря этой матрице остаточное содержание влаги в исследуемых образцах ниже, чем в образцах, полученных при использовании однокомпонентного растворителя. При содержании ТБС менее 3 масс.% наблюдается классическая дендривидная морфология льда. Дисперсность образцов сахарозы, полученных сублимационной сушкой раствора, содержащего 5 масс. % ТБС, была выше, чем у образцов, полученных из водных растворов [64]. Время сушки при добавлении ТБС сократилось с 100 до 10 часов. Авторы объясняют подобное поведение следующим образом. В емкостях, в которых происходит лиофильная сушка, всегда сверху происходит образование слоя сухого порошка (в иностранной литературе «cake»), а внизу емкости находится замороженный раствор и продолжается сублимация. Получается, что высушенный верхний слой препятствует сублимации молекул из нижнего слоя. В случае использования смешанного растворителя меняется морфология льда, который при удалении оставляет пористую матрицу сухого вещества, и благодаря этому эффективность процессов диффузии и конвекции газа из нижнего слоя существенно увеличивается. Другое объяснение увеличению скорости сублимации предложено в работе [65]. В ней были определены энтальпии сублимации льда при 0°С 2809 кДж/кг, ТБС при 25°С 732 кДж/кг и замороженного раствора, содержащего 10 масс. % воды при 5°С 1027 кДж/моль. То есть, чем больше в системе спирта, тем меньшее количество тепла необходимо подводить к системе для процесса сублимации. Теплоподвод упрощается, и интенсивность сублимации увеличивается.

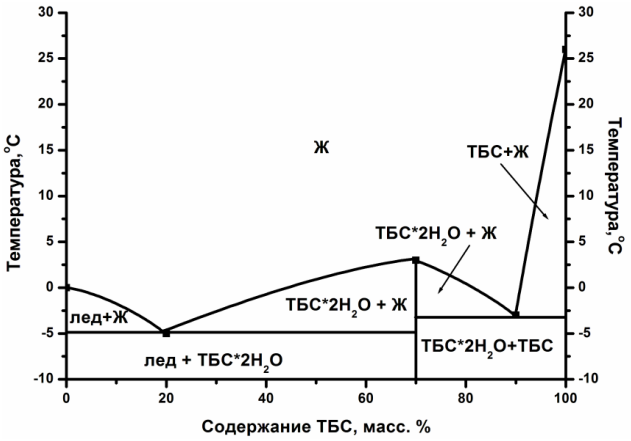

Рис. 8. Фазовая диаграмма ТБС-вода при 1 атм, согласно [62]

В работе [66] авторы использовали смешанные растворы спирт (этиловый, изопропиловый, трет-бутиловый, н-бутанол)-вода для получения кристаллической формы антибиотика цефалотина. Авторы ожидали, что после охлаждения раствора ТБС-вода (10 масс.% спирта) часть растворителя будет в аморфном состоянии, а затем кристаллизуется в смесь гидрат ТБС·$2H_2O$ и лед. На ДСК кривых замороженного раствора ТБС-вода (10 масс.% спирта) наблюдается экзотермический пик около -20°С, который авторы относят к кристаллизации компонентов растворителя. На кривых ДСК образцов замороженных растворов, содержащих другие спирты, данного эффекта не наблюдается, так как их температуры эвтектики гораздо ниже, чем у ТБС. То есть в других образцах растворитель находится в стеклообразном состоянии. На ДСК кривой раствора ТБС-вода (10 масс.% спирта) около -10°С наблюдается эндоэффект, который относится к плавлению смеси гидрат-вода. Авторы остановились на изучении смеси ТБС-вода в качестве исходного раствора для лиофильной сушки, так как в этом случае возможно получить полностью кристаллическую смесь фаз растворителя. Методом порошковой рентгеновской дифракции было показано, что в случае однокомпонентного водного раствора цефалотина (20 масс.%) как после его охлаждения, выдерживания при -15°С в течение 2 часов, а также первой стадии сушки не происходит кристаллизации АФИ, как впрочем и после завершения лиофилизации. Однако при исследовании поведения раствора с ТБС выявлено, что после замораживания в системе присутствуют гидрат и лед, а после отжига в течение 2 часов наблюдается появление кристаллической фазы цефалотина. Интенсивность пиков фазы АФИ существенно вырастает после стадии предварительной сушки. После завершения сублимационной сушки продукт представляет собой кристаллическое вещество. Кристаллизация цефалотина во время сушки из смешанного растворителя происходит из-за его меньшей растворимости в чистом ТБС. Растворимость цефалотина в воде составляет 20 мг/мл, а в ТБС 0.07 мг/мл. Использование смешанного растворителя привело к изменению морфологии конечного порошка. Порошок АФИ, полученный из водного раствора, состоял из чешуйчатых частиц, а порошок из водно-органического – из игольчатых. Причем размер чешуйчатых частиц был гораздо больше игольчатых. Таким образом, использование ТБС в качестве со-растворителя позволило получить дисперсный кристаллический порошок цефалотина.

Использование ТБС в качестве растворителя для лиофильной сушки возможно благодаря высокому давлению паров, высокой точке плавления, высокой скорости сублимации и низкой токсичности [61], (таблица 2). В этом же обзоре отмечалась попытка Флемберга и соавторов замены водных растворов противоопухолевого средства для лиофилизации на растворы вода - этиловый спирт, так как водные растворы АФИ были не стабильны и вещество разрушалось во

время сушки. Однако, в виду низкой температуры замерзания смесей этиловый спирт – вода, эффективность процесса была очень низкая.

Таблица 2. Физико-химические свойства органических растворителей, которые используют в исследовательских установках сублимационной сушки [61].

Растворитель	Растворимость в воде(%)*	Давление паров (ммHg при 20°C)	Температура плавления	Температура кипения
ТБС	100	26.8	24.0	82
этанол	100	41.0	-114	78.5
н-пропанол	100	14.5	-127	97.1
н-бутанол	7.7	5.6	-90	117.5
изопропанол	100	31.0	-89.5	81
этилацетат	8.7	64.7	-84	77.1
ацетон	100	160.5	-94	56.2
диметилсульфоксид	100	0.5	18.4	189
уксусная кислота	100	11.6	16.2	118.5
ТГФ	100	144.7	−108,4	66
1.4-диоксан	100	307.5	12	101
вода	-	17.54	0	100

*100 % - смешивающиеся жидкости

Основываясь на работах профессора DeLuca [62, 64], фармацевты из фирмы PharmaciaCorporation создали и запатентовали способ получения простогландинов [67]. Именно четкое понимание фазовых превращений, происходящих при охлаждении и последующей лиофильной сушке, влиянию этих процессов на свойства конечного продукта позволило специалистам создать стабильный продукт, обладающий всеми необходимыми качествами.

В работе [68] был предложен способ получения дисперсного моноклинного парацетамола (Форма I) с использованием сублимационной сушки быстрозамороженных растворов ацетон-вода. После анализа фазовой диаграммы ацетон-вода и растворимости парацетамола в данной смеси растворителей авторы выбрали концентрационные диапазоны компонентов раствора. Изучение фазовых переходов в выбранных растворах парацетамол-ацетон-вода in situ методом порошковой дифрактометрии при атмосферном и пониженном давлениях (рис. 9)) позволило зафиксировать образование тригидратата парацетамола при -30°C, а также неизвестной фазы, существующей до -60°C. На основании этих данные были выбраны температурные режимы сублимационной сушки замороженных растворов таким

образом, чтобы на каждой стадии сушки в системе присутствовали только твердые фазы. Согласно данным СЭМ полученные порошки парацетамола представляют собой агломераты частиц диаметром от 30 до 200 мкм (в зависимости от условий распыления) состоящие из плоских частиц от 1 до 10 мкм и толщиной от 60 до 150 нм.

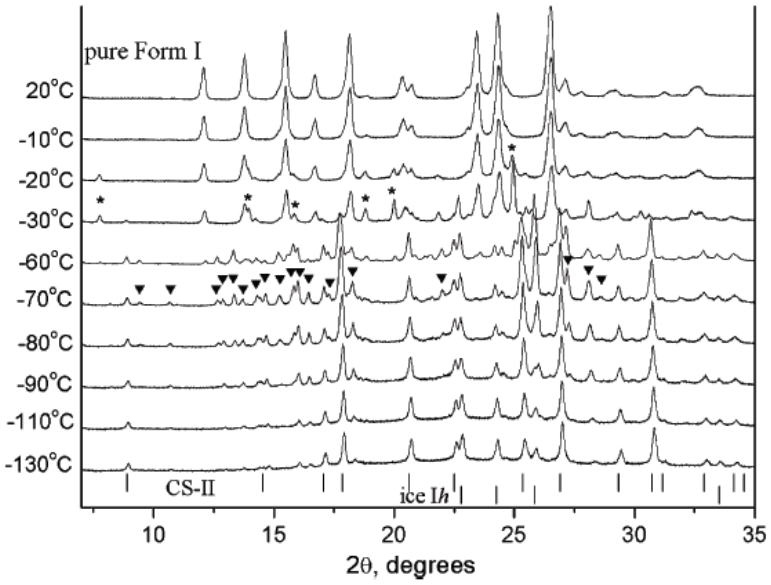

Рис. 9. Порошковые дифрактограммы замороженных растворов парацетамол-ацетон-вода при различных температурах и пониженном давлении, полученные в [68], * обозначены рефлексы тригидрата ацетона, ▼- рефлексы неизвестной фазы.

1.8 Примеры фазовых диаграмм систем легкокипящая жидкость - вода

Выше были рассмотрены примеры системного подхода к использованию водно-органических растворителей для получения дисперсных фаз, в которых авторы учитывали фазовые превращения, протекающие при охлаждении, отжиге и последующей сублимации. Во всех описанных статьях рассуждения начинались с построения диаграммы состояния системы растворителя, то есть с геометрического отображения равновесных состояний выбранной системы в пространстве параметров состояния (температура, состав, давление и пр.). В системах легкокипящая жидкость – вода при пониженных температурах возможно образование гидратов с водородной связью как в случае ТБС-вода, а также клатратных гидратов, как в случае ацетон-вода.

Клатратые гидраты - соединения, образованные путем включения молекул, называемых гостями, в полости каркаса, построенного молекулами другого сорта, называемыми хозяевами (в случае гидратов, это - молекулы воды). Между молекулами гостя и хозяина в этих соединениях нет каких-либо взаимодействий кроме ван-дер-ваальсовых. Многие легкокипящие жидкости образуют клатратные гидраты [69].

Для получения быстрорастворимой формы даназола методом распылительной сублимационной сушки в работах [70, 71] использовали смешанный растворитель ТГФ-вода. Для проведения процесса сушки замороженного раствора авторы выбрали температуру -40°С и концентрацию ТГФ около 40 масс. %. Из фазовой диаграммы двойной системы, представленной на рис 10а, видно, что при этих условиях фигуративная точка системы оказывается в области II, в которой сосуществует жидкость и гидрат. Именно появление жидкости в системе привело в данной работе к получению кристаллов правильной формы, что не характерно для продуктов сублимационной сушки, полученных в правильно выбранных условиях.

Клатратный гидрат, образующийся в системе ТГФ-вода, обладает наибольшей термической устойчивостью среди всех известных к настоящему времени гидратов кубической структуры (КС) II (*Fd3m*), образуемых легкокипящими жидкостями, вследствие наилучшей комплементарности размеров молекулы ТГФ большой полости каркаса КС-II [69, 72, 73]. Фазовая диаграмма системы ТГФ-вода, представленная на рисунке 10а, включает в себя образование конгруэнтного соединения ТГФ·17H_2O, которое плавится при +4°С. В системе ацетон-вода также происходит образование клатратного гидрата КС II, однако он плавится инконгруэнтно около -19°С (рисунок 1.10б) [74]. 1.4-диоксан так же как и ацетон образует с водой клатратный гидрат КС II, плавящийся инконгруэнтно около -12°С (рисунок 1.10в), но методам ДСК было показано существование метастабильной эвтектики при -19°С [75,76]. Этот факт необходимо учитывать при нагревании замороженных растворов циклический эфир-вода.

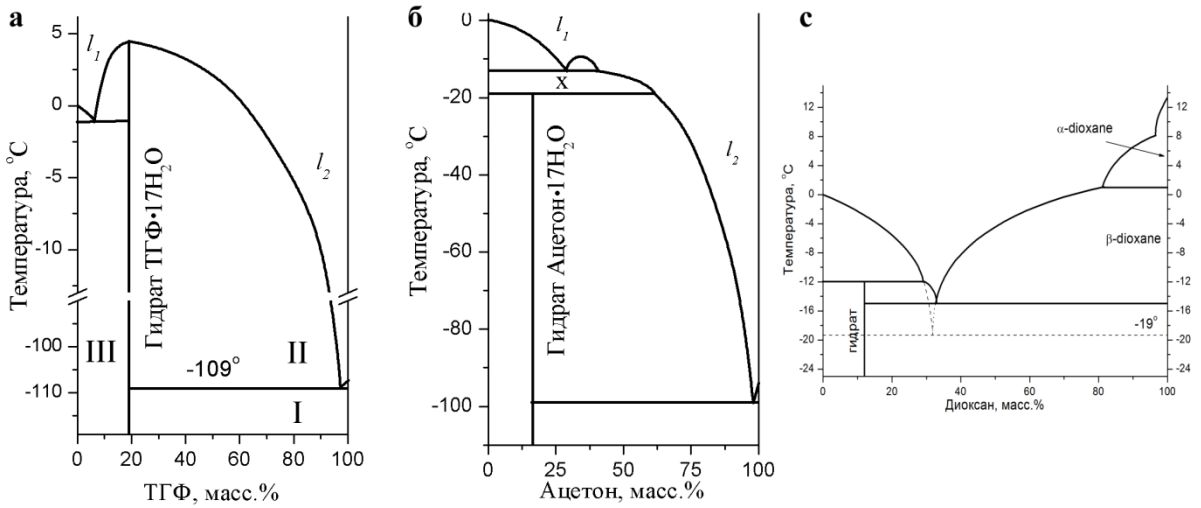

Рис. 10. Фазовые диаграммы ТГФ-вода (а)[72], ацетон-вода (б)[74], 1.4-диксан-вода (с) [75] при 1 атм.

Системы спирт-вода изучались многими авторами [77, 78, 79], в основном с помощью методов ДСК и ДТА. Для фармацевтики самой актуальной остается система этиловый спирт – вода, так как она считается нетоксичной. Известно, что в системе существует несколько

клатратных гидратов. Следует отметить, что изучение данной системы во многом осложнено образованием метастабильных фаз. Отт и соавторы [77] зафиксировали в системе одну стабильную эвтектику при -121,8°С и одну метастабильную при -124,3°С, а также перетектику при -72.4°С. В работе [78] методом ДТА построена фазовая диаграмма при 1 атм., автор отмечает образование 1 стабильного гидрата с содержанием спирта 55 масс. % и 2 метастабильных с содержанием воды 35 и 45 масс.%. Все они плавятся инконгруэнтно, 3 перетектики отмечены в диапазоне от -75 до -60°С, а эвтектика наблюдается около -124°С. В работе [79] выявлено большее количество фазовых переходов между метастабильными фазами. На фазовой диаграмме авторы обозначили около 7 различных стабильных и метастабильных гидратов (рис. 11), однако с помощью дифракционных методов было зафиксировано образование 2 клатратных гидратов: КС I и модифицированный КС II [80].

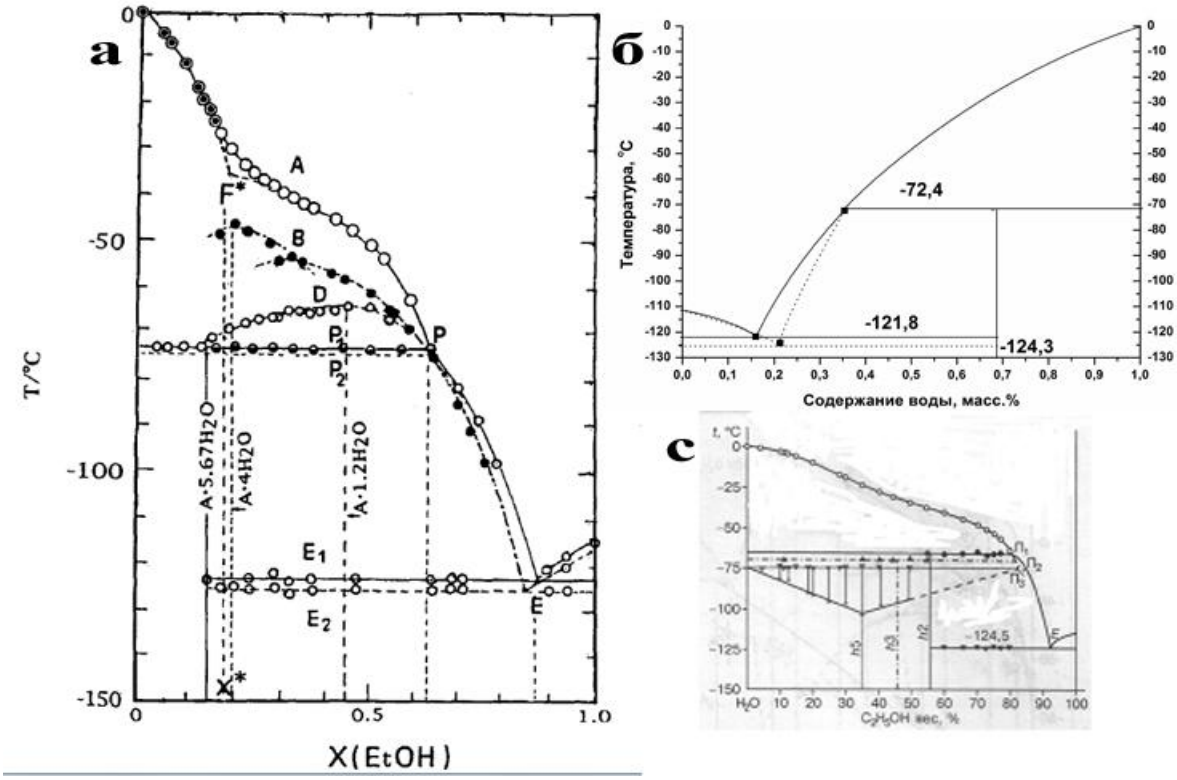

Рис. 11. Варианты фазовой диаграммы этиловый спирт – вода по данным различных авторов: а-[77], б-[78], с-[79]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Смешанные растворители «легкокипящая жидкость – вода» получили широкое применение в работах по созданию новых высокоэффективных лекарственных форм с использованием различных вариантов лиофильной сушки. Однако, примеры корректного описания процессов, учитывающие все фазы, образующиеся при охлаждении и сублимации, встречаются достаточно редко. При этом, целенаправленное использование явления гидратообразования началось совсем недавно.

Наибольший интерес вызывает возможность использования растворителей ТГФ-вода и ТГФ-низкоатомный спирт-вода для получения многокомпонентных фармацевтических композиций мало растворимых в воде ЛВ и растворимых в воде носителей. В системе ТГФ-вода образуется конгруетноплавящийся клатратный гидрат, обладающий максимальной термической устойчивостью среди известных гидратов кубической структуры II, образуемых легкокипящими жидкостями. Большинство ЛВ растворимы в спиртах, но клатратные гидраты спиртов плавятся инконгруентно при достаточно низких температурах, что делает не целесообразным использование спиртовых растворов. Есть все основания полагать, что добавление некоторых количеств ТГФ в раствор низкоатомный спирт-вода позволит получить стабильный до более высоких температур двойной клатратный гидрат, образование которого свяжет все компоненты смешанного растворителя.

Настоящее исследование включает следующие взаимосвязанные разделы:

1. Изучение фазовых превращений, происходящих при замораживании и последующем нагревании замороженных растворов в двойных и тройных системах с клатратообразованием с использованием методов порошковой дифрактометрии и термического анализа.
2. Анализ полученных данных, сравнение с известными диаграммами плавкости исследуемых систем, моделирование P,T – и T,X- проекций фазовых диаграмм исследуемых систем. Выбор оптимальных концентрационных диапазонов и условий удаления используемых смесей растворителей сублимацией.
3. Получение высокодисперсных порошков и твердых дисперсных систем методом сублимационной сушки и изучение их физико-химических свойств.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Исходные субстанции и растворители

В работе были использованы:

Исходные субстанции: парацетамол (N-(4-гидроксифенил) ацетамид) моноклинная полиморфная модификация («Merk», чистота ≥99%)), ибупрофен ((RS)-2-(4-изобутилфенил)-пропионовая кислота) («Татхимфармапрепараты», «х.ч.»), сальбутамол (2-трет-Бутиламино-1-(4-окси-3-оксиметил-фенил)-этанол) («Selectchemie AG», чистота ≥99%), будесонид ((11β, 16α)-16,17-(бутилиден-бис(окси)-11,21-дигидроксипрегна-1,4-диен-3,20-дион)) («Sigma-Aldrich», чистота ≥99%); дипропионат беклометазона (9а-хлор-11b,17а,21-триокси-16b-метил- 1,4-прегнадиен-3,20-диона 17,21-дипропионат) («Sigma-Aldrich», чистота ≥99%), моногидрат лактозы («Merk», чистота ≥99%); глицин (АО «Реахим» ИМП, ГОСТ 5860-75), перекристаллизованный согласно [81] для получения чистой α-формы; NaCl (ч.д.а.).

Растворители: ацетон для хроматографии (Харьковский завод химреактивов), 1.4-диоксан (ч.д.а., ОАО «Реактив»); ТГФ, очищенный от перекисей перегонкой (ИМП, ЗАО «Вектон»), *трет*-бутиловый спирт (ч.д.а., ЗАО «Вектон»), этиловый спирт (ОАО «Кемеровская фармацевтическая фабрика», 95 масс. %) и дистиллированную воду

2.2. Исследование процессов, происходящих при отжиге замороженных растворов: определение температурных режимов сушки.

2.2.1. Приготовление образцов

2.2.1.1. Система парацетамол-ТГФ-H_2O

В 16 г раствора ТГФ - H_2O с содержанием ТГФ 21.9 масс. % при перемешивании растворили 1.5 г парацетамола. Раствор распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0.4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1 атм.) в емкость с жидким азотом. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз переносили в контейнер для хранения образцов при температуре жидкого азота (далее в тексте контейнер)

2.2.1.2. Система глицин – ТГФ - H_2O

В 10.1 г раствора ТГФ - H_2O с содержанием ТГФ 20.8 масс. % при перемешивании растворили 0.52 г α-глицина. Раствор распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0.4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1 атм.) в емкость с жидким азотом. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз переносили в контейнер.

2.2.1.3. Система NaCl- H_2O

В 8.75 г. воды растворили 1.25 г. NaCl. Охлаждение раствора производили двумя способами. Первый способ: раствор распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0.4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1.5 атм.) в емкость с жидким азотом. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз помещали в контейнер. Второй способ: раствор распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0.4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1.5 атм.) на охлажденную до температуры жидкого азота медную пластину. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз помещали в контейнер.

2.2.1.4. Система этиловый спирт-H_2O

Растворы этиловый спирт-H_2O с содержанием спирта от 5 до 60 масс. % с шагом 5 %, всего 11 растворов, по 10 г. каждого, распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0.4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1 атм.) в емкость с жидким азотом. Смесь образовавшихся фаз переносили в контейнер для дальнейшего хранения при температуре жидкого азота.

Растворы этиловый спирт-H_2O с содержанием спирта от 10 до 90 масс. % с шагом в 10 % , всего 9 растворов, по 10 г. каждого, распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0.4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1 атм.) в емкость с жидким азотом. Смесь образовавшихся фаз переносили в контейнер.

Контейнеры с образцами (содержание этилового спирта от 90 до 60 масс. %) хранили в сосуде Дьюара с жидким азотом; с содержанием от 50 до 10 масс. % - в сосуде Дьюара с сухим льдом (-80°С) около 1 месяца. Каждую неделю образцы перетирали в металлической ступке при температуре жидкого азота для установления равновесия. Далее эти образцы будут называться «оттоженными».

2.2.1.5. Система *трет*-бутиловый спирт-H_2O

Растворы ТБС-H_2O около 10 г каждого с содержанием трет-бутилового спирта 20, 37 и 67 масс. % охлаждали 2 способами. Первый способ (медленное охлаждение): контейнер заполнили раствором, выдерживали 4 часа при 3°С, затем 4 часа при -20°С, после чего поместили в сосуд Дьюара с сухим льдом (-80°С). Второй способ (быстрое охлаждение): раствор выливали на поверхность металлической ступки, охлажденной до температуры жидкого азота. Образцы растирали в металлической ступке при температуре жидкого азота и помещали в контейнер.

2.2.1.6. Система ТГФ-*трет*-бутиловый спирт-H_2O

Растворы ТГФ-*трет*-бутиловый спирт(ТБС)-H_2O (содержание компонентов указано в таблице 3), массой около 10 г., охлаждали 2 способами. Первый способ (медленное охлаждение): контейнер заполнили раствором, выдерживали 4 часа при 3°С, затем 4 часа при -20°С, после чего поместили в сосуд Дьюара с сухим льдом (-80°С). Второй способ (быстрое охлаждение): раствор выливали на поверхность металлической ступки, охлажденной до температуры жидкого азота. Образцы растирали в металлической ступке при температуре жидкого азота и помещали в контейнер.

Таблица 3. Состав растворов ТГФ-ТБС-H_2O

Метка	ТГФ, масс. %	ТБС, масс. %	H_2O, масс. %
А	15	5	80
Б	10	10	80
В	5	15	80

2.2.1.7. Система ибупрофен-ацетон-вода и ибупрофен-1.4-диоксан-вода

В 10 г раствора ацетон-вода (2 раствора; 50 и 70 масс.% ацетона) или 1,4-диоксан-вода (2 раствора; 60 и 80 масс.% 1,4-диоксана) растворяли при перемешивании 1 г ибупрофена. Раствор распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0,4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1 атм.) в емкость с жидким азотом. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз переносили в контейнер.

2.2.2. Порошковая дифрактометрия in situ

2.2.2.1. Дифракционный эксперимент с использованием синхротронного излучения (Т: от -196°С,Р = 1 атм.)

Дифрактометрические исследования выполнялись на 4-й станции ВЭПП-3 СЦСТИ ИЯФ СО РАН. Рентгеновский эксперимент проводился по схеме Дебая-Шеррера с использованием коротковолнового синхротронного излучения (λ= 0.3675 Å). Регистрация дифракционной картины производилась с использованием двумерного запоминающего рентгеновского экрана (Image plate) MAR 345 с диаметром экрана 345 мм., размер пикселя 100 μм. Расстояние между образцом и детектором было вычислено по порошковой дифрактограмме хлорида натрия и составляло около 374 мм. Образец извлекали из контейнера и при температуре жидкого азота растирали в ступке, затем загружали при этой же температуре в алюминиевую ячейку (Рис. 12) с двумя отверстиями закрытыми пенопластом: для входа первичного пучка и для выхода дифрагированного излучения. Ячейку нагревали со скоростью около 3 градус/секунду, начиная с -196°С. Дифракционные картины получали в интервале температур от -196°С до 0°С. Каждую дифрактограмму накапливали в течение 4 минут. При этом ей присваивали температуру,

среднюю для данного интервала. Интегрирование производили с использованием программы FIT2D [82], индексирование рефлексов и уточнение параметров элементарной ячейки проводили с использованием программы XLAT [83].

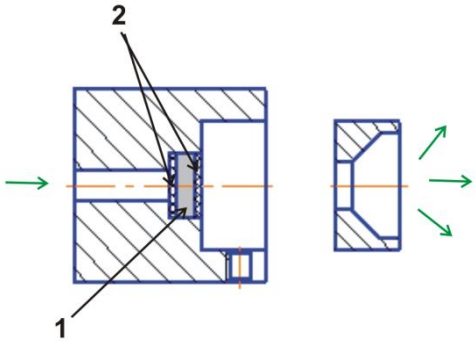

Рис. 12. Ячейка для СИ-исследований. Обозначения: 1 - местонахождение образца, 2 – пенопластовые заглушки, зелеными стрелками отмечено направление входа первичного пучка СИ и выхода дифрагированного излучения.

2.2.2.2. Дифракционный эксперимент с использованием CuK_{α} излучения

(T: от -120°C,P = 1 атм - 10^{-3} мм рт.ст.)

Исследование фазовых превращений, происходящих при отжиге замороженных растворах в выбранных системах, производили с использованием порошкового дифрактометра Bruker D8 Advance, оборудованого низкотемпературной приставкой TTK 450 Anton Paar для исследований в условиях вакуума до 10^{-3} мм рт.ст. Образец извлекали из контейнера, при температуре жидкого азота растирали в ступке, затем при этой же температуре переносили в предварительно охлажденную до –160°C ячейку дифрактометра. При этом температура ячейки поднималась до -120°C. Порошковые дифрактограммы записывались в режиме 2Θ сканирования в интервале 5-45 градусов с шагом 0.02 градуса, в температурном интервале -120°C до +20°C.

Индексирование рефлексов и уточнение параметров элементарной ячейки проводили с использованием программы XLAT [83].

2.2.3. КР-спектроскопия при низких температурах

Спектры КР измерялись на спектрометре LabRAM HR, Horiba (JobinYvon), оснащенном многоканальным детектором. Для возбуждения спектра использовалась линия 488 нмAr+-ионного лазера 35LAP431 “MellesGriot”, USA. Лазерное излучение фокусировалось на поверхность образца с диаметром пятна около 1 мкм и мощностью на поверхности 0.3 – 3 мВт. Рассеянный свет собирался объективом MPlan “Olympus” с 50-кратным увеличением и апертурой 0.6. Спектры измерялись в геометрии обратного рассеяния с применением

микроскопа для направления возбуждающего света на образец и сбора рассеянного излучения. Измерения выполнялись со спектральным разрешением в 2.0 см$^{-1}$. На рис. 13 представлен внешний вид и принципиальная схема приставки для низкотемпературной съемки КР-спектров с регулятором температуры («Термодат 10М5») и 2 хромель-алюмелевыми термопарами. Образец извлекали из контейнера, растирали в охлажденной до температуры жидкого азота дюралевой ступке, помещали ячейку при этой же температуре и накрывали пенопластовой крышкой. К окошку подводили поток сжатого воздуха для предотвращения конденсации влаги из окружающей среды.

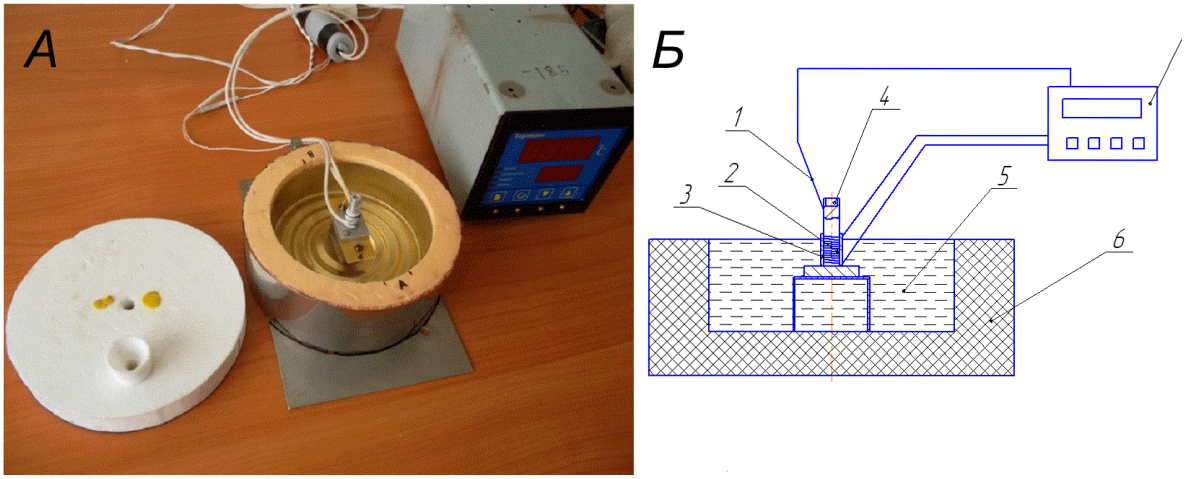

Рис. 13. Приставка для низкотемпературной съемки КР-спектров.. А - внешний вид, Б - принципиальная схема. Обозначения на рисунке Б: 1 – ХА термопара, 2 – нагревательный элемент, 3 – электроизоляция. 4 – ячейка, 5 – жидкий азот, 6 – термоизоляция, 7 – регулятор температуры «Термодат 10М5»

2.2.4. Дифференциальный термический анализ

Температуры твердофазных превращений исследовали методом дифференциального термического анализа (ДТА) в 2 разных условиях.

А. Для ДТА экспериментов использовали установку подробно описанную в [84]. Исследуемые составы готовились распылением в емкость с жидким азотом как указано в пункте 1.1.4. Воспроизводимость определения температуры ±0.05°С, точность определения температуры фазового перехода ±0.2°С. Скорость нагревания образца составляла 0.2 град/мин.

Б. Для ДТА экспериментов использовали установку, подробно описанную [84]. Калибровка термопар (хромель-алюмель) была взята из литературы и проверялась по температурам плавления ртути, воды и индия. В ампулы из молибденового стекла с углублением в дне для термопары запаивались образцы растворов различных составов, лежащих на отрезке «гидрат ТГФ·17H_2O – гипотетический гидрат ТВС·17H_2O» (рис. 14), приготовленных взвешиванием из ТГФ, ТБС и воды. Для установления равновесия ампулы

выдерживались при -25°С в течение одной-двух недель, затем для каждой ампулы записывались термические кривые нагревания от -25°С. Составы исследуемых растворов приведены в таблице 4.

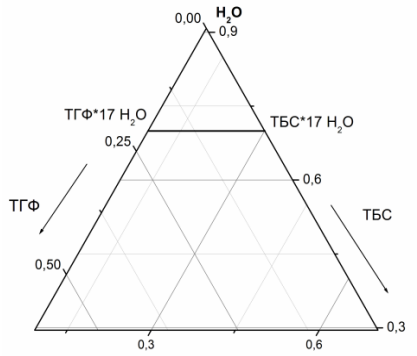

Рис. 14. Часть треугольника Гиббса тройной системы ТГФ-ТБС-вода

Таблица 4. Составы растворов для ДТА экспериментов

№ ампулы (мольное соотношение ТГФ:ТБС)	ТГФ,г / масс. %	ТБС, г / масс. %	H_2O, г / масс. %
1 (4:1)	1.54 / 15.5	0.38 / 3.8	8.03 / 80.7
2(3:2)	1.15 / 11.4	0.79 / 7.8	8.15 / 80.8
3(7:3)	1.43 / 14.5	0.57 / 5.8	7.88 / 79.8
4 (1:1)	0.94 / 9.5	0.96 / 9.7	7.96 / 80.7
5 (2:3)	0.73 / 7.7	1.12 / 11.8	7.66 / 80.5
6 (3:7)	0.57 / 5.6	1.38 / 13.6	8.16 / 80.7
7 (1:4)	0.38 / 3.8	1.57 / 15.7	8.06 / 80.5
8 (1:9)	0.21 / 2.1	1.74 / 17.6	7.96 / 80.3
9 (9:1)	1.72 / 17.4	0.20 / 2.0	7.96 / 80.6

2.2.5. ДСК при низких температурах.

Калориметрические измерения замороженных образцов проводились на DSC-204 (Netzsch). Замороженный раствор получали следующим образом. В 10.1 г раствора ТГФ - H_2O с содержанием ТГФ 20.8 масс. % при перемешивании растворили 0.50 г α-глицина. Раствор выливали на лежащую в емкости с жидким азотом медную пластину. Полученный таким образом образец визуально разделяли на «стеклообразные» (прозрачные) и матовые фрагменты. При температуре жидкого азота вручную отделяли тонкие пластинки «стеклообразной фазы». «Стеклообразную фазу» переносили в тигель при температуре жидкого азота, а затем загружали в аппарат при -120°С, эксперимент начинали от -100°С. Скорость нагрева 6 К/мин, поток сухого аргона 15 мл/мин.

2.2.6. Сканирующая электронная спектроскопия при низких температурах

Исследования проводились на сканирующем электронном микроскопе ТМ-1000 (Hitachi). Образец вынимали из контейнера при температуре жидкого азота,помещали на металлический диск, охлажденный до той же температуры и помещали на предметный столик микроскопа.

2.3. Получение высокодисперсных форм лекарственных веществ, фармацевтических композиций и веществ-носителей

В работе использовался лабораторный вариант установки сублимационной сушки, представляющий собой вакуумируемую камеру со свободным объемом ~1,5 дм^3 (рис. 15), подключаемую к вакуумной линии на базе насоса Pfeiffer DUO 060A (остаточное давление $6 \cdot 10^{-3}$мбар, производительность 60 м^3/час), оснащенную азотной ловушкой, системами регистрации давления и подачи в камеру сухого азота (или инертного газа) (рис. 16).

Рис. 15. Внешний вид вакуумной камеры

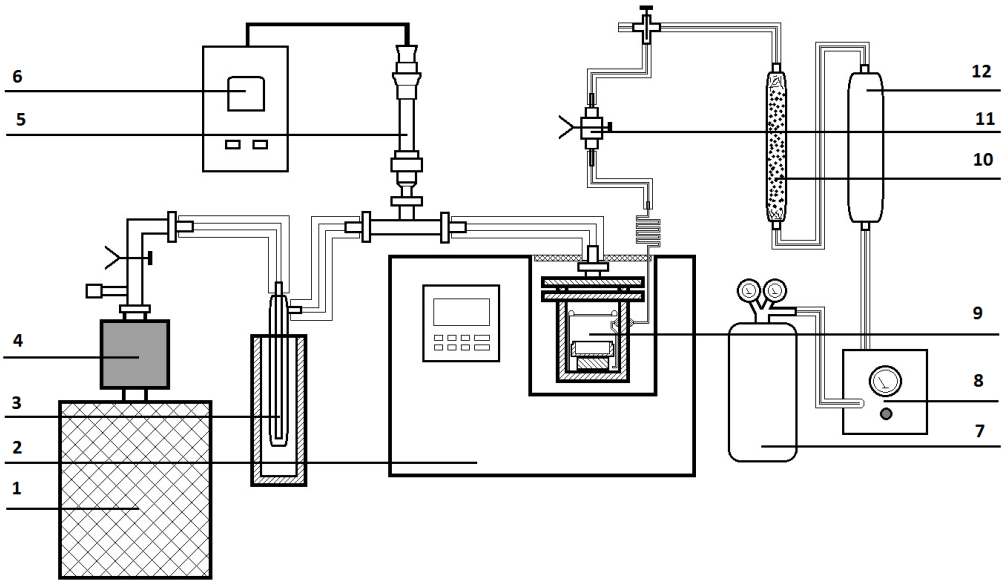

Рис. 16. Принципиальная схема лабораторной установки сублимационной сушки (1 – вакуумный насос Pfeiffer DUO 060A, 2 – термостат ЛАБ-ТЖ-ТС-01/16Л-40, 3 – азотная ловушка, 4 – буферный объем насоса, 5 – манометрический преобразователь ПМТ-6-3М-1, 6 – вакуумметр Мерадат ВИТ12Т1 (элементы 5 и 6 в последних экспериментах были заменены на датчик давления 275 Mini-Convectron (Granville-Phillips)), 7 – термос с жидким азотом либо баллон с газом (аргон), 8 - регулятор давления, 9-вакуумная камера, 10 - осушительная колонка, 11 - кран тонкой регулировки тока газа, 12 – буферный объем системы подачи газа.

2.3.1. NaCl

В 8.75 г. воды растворили 1.25 г. NaCl. Раствор распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0,4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1.5 атм.) в емкость с жидким азотом. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз помещали в охлажденный до температуры жидкого азота массивный держатель, который помещали при температуре жидкого азота в вакуумную камеру, камеру закрывали и затем понижали давление в ней до P< 2 Па. Затем вакуумную камеру помещали в ванну термостата с температурой теплоносителя -15ºС. Сушку проводили в токе сухого азота (Т ~ -15ºС, Р ~ 10^2 Па) до падения давления в камере до *P*< 1 Па (~4 часа) при постоянном откачивании. Затем температуру теплоносителя повышали до -5ºС, выдерживали при постоянном откачивании до падения давления в камере до *P*< 1 Па (~3 часа). После температуру теплоносителя повышали +30ºС, с выдерживанием в течение 3 часов при этой температуре. Давление в камере повышали до Р=1 атм. заполнением камеры сухим азотом, камеру открывали, доставали держатель с образцом,

образец помещали в предварительно взвешенный бюкс, взвешивали и помещали в эксикатор с сухой атмосферой для дальнейшего хранения. Выход 0.9 г (74 %).

2.3.2. β-Глицин

В 20.0 г раствора ТГФ - вода (23.0 масс. % ТГФ) при перемешивании и небольшом подогревании раствора (до +30ºС) растворяли 1.0 г. α-глицина. Раствор распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0,4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1.5 атм.) в емкость с жидким азотом. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз помещали в охлажденный до температуры жидкого азота массивный держатель, который помещали при температуре жидкого азота в вакуумную камеру, камеру закрывали и затем понижали давление в ней до P< 2 Па. Затем вакуумную камеру помещали в ванну термостата с температурой теплоносителя -5ºС. Сушку проводили в токе сухого азота (Т ~ -5ºС, Р ~ 10^2 Па) до падения давления в камере до *P*< 1 Па (~4 часа) при постоянном откачивании. Затем температуру теплоносителя повышали до +30ºС, с выдерживанием в течение 3 часов при этой температуре. Давление в камере повышали до Р=1 атм. заполнением камеры сухим азотом, камеру открывали, доставали держатель с образцом, образец помещали в предварительно взвешенный бюкс, взвешивали и помещали в эксикатор с сухой атмосферой для дальнейшего хранения. Выход 0.69 г (69 %).

2.3.3. Лактоза

В 20.0 г раствора ТГФ - вода (23.0 масс. % ТГФ) при перемешивании и небольшом подогревании раствора (до +30ºС) растворяли 1.0 г. лактозы. Далее проводили все процедуры согласно пункту 2.3.2. Выход 0.69 г (69 %).

2.3.4. Фармацевтические композиции, содержащие сальбутамол или будесонид

2.3.4.1. Композиции сальбутамол-глицин и будесонид-глицин с содержанием действующего вещества около 2 масс %

В 20.0 г. раствора ТГФ - вода (23.0 масс. % ТГФ) при перемешивании и небольшом подогревании раствора (до +30ºС) растворяли 1.0 г. α-глицина и 20 мг. сальбутамола илибудесонида. Далее проводили все процедуры согласно пункту 2.3.2. Выход 620 мг. (62%) в случае сальбутамола, 530 мг. (53%) в случае будесонида.

2.3.4.2. Композиции сальбутамол-глицин / сальбутамол-лактоза с содержанием действующего вещества около 20 масс %

В 20,0 г. раствора ТГФ - вода (22.6 масс. % ТГФ) при перемешивании и небольшом подогревании раствора (до +30ºС) растворяли 1.0 г. α-глицина или 1.0 г. лактозы моногидратаи

200 мг. сальбутамола. Далее все повторяли как в пункте 2.3.2. Выход 835 мг. (70%) в случае глицина, выход 810 мг (67.5%) в случае лактозы.

2.3.5. Комбинированные фармацевтические композиции, содержащие сальбутамол и дипропионат беклометазона

Данные композиции получали из рабочих растворов, составы которых указаны в таблице 5. В смешанном водно-органическом растворителе при перемешивании и нагревании (до +50ºС) растворяли сальбутамол, затем дипропионатбеклометазона и после полного растворения АФИ добавляли навеску глицина. Раствор распыляли через пульверизатор (избыточное давление распыляющего газа 1.1 атм.) в емкость с жидким азотом. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз помещали в охлажденный до температуры жидкого азота держатель, который помещали при температуре жидкого азота в вакуумную камеру, камеру закрывали и затем понижали давление в ней до P < 8 мторр. Затем вакуумную камеру помещали в ванну термостата с температурой теплоносителя -15ºС. Сушку проводили в токе сухого азота (T= -15ºС, P = 600±20 мторр) при постоянном откачивании до падения давления в камере до P < 8 мторр при отключении подачи азота. Затем температуру теплоносителя повышали до +30ºС, с выдерживанием в течение 3 часов при этой температуре. После этого давление в камере повышали до P=1 атм. заполнением камеры сухим азотом, камеру открывали, доставали держатель с образцом, образец помещали в предварительно взвешенный бюкс, взвешивали и помещали в эксикатор с сухой атмосферой для дальнейшего хранения.

Таблица 5. Состав растворов

№	H_2O, г/(масс. %)	ТГФ, г/(масс. %)	ТБС, г/(масс. %)	Сальбутамол,г	Дипропионат беклометазона, мг	Глицин, мг
1	31.97(79.5)	2.07(5.2)	6.14(15.3)	20	20	1000
2	16.0(78.8)	2.1(10.4)	2.2(10.8)	10	10	500
3	32.1(80.0)	6.1(15.0)	2.0(5)	20	20	1000
4	40.4(77.5)	5.95(15.0)	3.1(7.5)	30	15	600

2.3.6. Ибупрофен

А) В 20 г раствора 1.4-диоксан – вода с содержанием воды 20.5 масс % при перемешивании растворяли 2 г. ибупрофена. Раствор распыляли через пульверизатор (диаметр

подводящего капилляра 0,4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1.5 атм.) в емкость с жидким азотом. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз помещали в охлажденный до температуры жидкого азота массивный держатель (масса держателя и подставки > массы смеси примерно в 3 раза), который помещали при температуре жидкого азота в вакуумную камеру, камеру закрывали и затем понижали давление в ней до P< 2 Па. Затем вакуумную камеру помещали в ванну термостата с температурой теплоносителя -20ºС. Сушку проводили в токе сухого азота (Т ~ -20ºС, Р ~ 10^2 Па) до падения давления в камере до *P*< 1 Па (~4 часа) при постоянном откачивании. Затем температуру теплоносителя повышали до -7ºС, выдерживали при постоянном откачивании до падения давления в камере до *P*<1 Па (~4 часа). После температуру теплоносителя повышали +50ºС, с выдерживанием в течение 3 часов при этой температуре. Давление в камере повышали до Р=1 атм. заполнением камеры сухим азотом, камеру открывали, доставали держатель с образцом, образец помещали в предварительно взвешенный бюкс, взвешивали и помещали в эксикатор с сухой атмосферой для дальнейшего хранения. Выход 2.6 г (65 %).

Б) К 20 г раствора ацетон – вода с содержанием воды 30 масс % при перемешивании растворяли 4г. ибупрофена. Раствор распыляли через пульверизатор (диаметр подводящего капилляра 0.4 мм., избыточное давление распыляющего газа 1.5 атм.) в емкость с жидким азотом. Образующуюся после охлаждения смесь твердых фаз помещали в охлажденный до температуры жидкого азота массивный держатель (масса держателя и подставки > массы смеси примерно в 3 раза), который помещали при температуре жидкого азота в вакуумную камеру, камеру закрывали и затем понижали давление в ней до P< 2 Па. Затем вакуумную камеру помещали в ванну термостата с температурой теплоносителя -20ºС. Сушку проводили в токе сухого азота (Т ~ -20ºС, Р ~ 10^2 Па) до падения давления в камере до *P*< 1 Па (~4 часа) при постоянном откачивании. Затем температуру теплоносителя повышали до -5ºС, выдерживали при постоянном откачивании до падения давления в камере до *P*< 1 Па (~4 часа). После температуру теплоносителя повышали +30ºС, с выдерживанием в течение 3 часов при этой температуре. Давление в камере повышали до Р=1 атм. заполнением камеры сухим азотом, камеру открывали, доставали держатель с образцом, образец помещали в предварительно взвешенный бюкс, взвешивали и помещали в эксикатор с сухой атмосферой для дальнейшего хранения. Выход 2.9 г (73 %).

2.4. Приготовление прототипов твердых форм для вдыхания

А. Разбавление грудобисперсным носителем.

Эксперименты по подбору условий приготовления прототипов твердых форм сальбутамола для использования в порошковых ингаляторах проводили в вибрационной мельнице SPEX 8000 (стальной барабан объёмом 60 мл, диаметр шаров 6 мм, масса шаров 9 г, нагрузка на шар - 8-10 g). В барабан помещали навески ~ 100 мг композиции сальбутамол-глицин (с содержанием сальбутамола около 20 масс. %) и ~ 730 мг лактозы моногидрата (размер частиц до 70 мкм). Время перемешивания: 15, 30 и 60 сек.

Б. Разбавление высокодисперсным носителем (β-глицин).

Перемешивание с высокодисперсным носителем, β-глицином, полученных в тех же условиях, что и композиции сальбутамол-глицин, проводили в вибрационной мельнице SPEX 8000 (стальной барабан объёмом 60 мл, диаметр шаров 6 мм, масса шаров 9 г, нагрузка на шар - 8-10 g). В барабан помещали навески ~ 100 мг композиции сальбутамол-глицин (с содержанием сальбутамола около 20 масс. %) и ~ 730 мг высокодисперсного β-глицина. Время перемешивания составляло15 сек.

2.5. Характеризация образцов

2.5.1. Дифракционные методы

2.5.1.1. Использование CuK_{α}-излучения

Запись порошковых дифрактограмм полученных образцов проводилась с использованием дифрактометраBruker D8 Advance (длина волны 1.5418 Å) в режиме 2Θ сканирования в интервале 5-45 градусов с шагом 0.02 градуса.

Эксперименты по определению температуры трансформации β-глицин → α-глицин полученных образцов высокодисперсного β-глицина, а также композиций глицин-сальбутамол и глицин-будесонид проводили в температурном интервале от 30 до 230°C при пониженном давлении (статический вакуум, 2-4 мм.рт.ст.).

2.5.1.2. Использование синхротронного излучения

Дифракционный эксперимент с использованием коротковолнового синхротронного излучения (λ = 0,3685 Å) проводили по схеме Дебая-Шеррера (4-ая станция ВЭПП-3 СЦСТИ ИЯФ СО РАН.). Регистрацию дифракционной картины производили с использованием запоминающего рентгеновского экрана (Imaging plate) MAR 345 (диаметр экрана 345 мм, размер пикселя 100 μм). Расстояние между образцом и детектором было вычислено по порошковой дифрактограмме хлорида натрия и составляло около 375 мм. Образец помещали в алюминиевую ячейку с двумя прикрытыми пенопластом отверстиями – для входа первичного пучка и для выхода дифрагированного излучения (рис. 1).

2.5.2. Диффренциальная сканирующая калориметрия (ДСК) и термогравиметрия (ТГА)

Калориметрические измерения образцов проводились на DSC-204 (Netzsch) при нагревании со скоростью 6 К/мин в стандартных алюминиевых тиглях в токе аргона высокой чистоты (30 мл/мин).

Эксперименты с использованием ТГА по характеризации полученных образцов композиции сальбутамол-лактоза, высокодисперсной лактозы и исходного реактива моногидрата лактозы проводились с использованием термовесов TG-209 Netzsch. Нагревание со скоростью 10 К/мин в алюминиевых тиглях объёма около 0,25 мкл в токе чистого аргона 21 мл/мин. Измерения проводились с "бланком" (вычитались измерения пустого тигля).

2.5.3. КР-спектроскопия

Спектры КР измерялись на спектрометре LabRAMHR, Horiba (Jobin Yvon), оснащенном многоканальным детектором. Для возбуждения спектра использовалась линия 488 нм Ar^+-ионного лазера 35LAP431 “MellesGriot”, USA. Лазерное излучение фокусировалось на поверхность образца с диаметром пятна около 1 мкм и мощностью на поверхности 0.3 – 3 мВт. Рассеянный свет собирался объективом MPlan “Olympus” с 50-кратным увеличением и апертурой 0.6. Спектры измерялись в геометрии обратного рассеяния с применением микроскопа для направления возбуждающего света на образец и сбора рассеянного излучения. Измерения выполнялись со спектральным разрешением в 2.0 $см^{-1}$.

2.5.4. Сканирующая электронная микроскопия

Морфологию и размеры частиц получаемых образцов изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа EVOMA10 (CarlZeiss), атакже настольных сканирующих электронных микроскопов TM-3000 и TM-1000 (Hitachi). Образец помещали на двустороннюю проводящую клейкую ленту, наклеенную на металлический диск. Для получения проводящей поверхности образца использовали напыление Pt (толщина слоя 8-16 нм) или Au (толщина слоя 8 нм) в вакууме (Jeol JFC-1600 Auto Fine Coater).

2.5.5. Определение удельной площади поверхности

Удельная площадь поверхности образцов была измерена по изотермам сорбции/десорбции N_2 (ASAP-2400, Micromeritics, USA).

2.5.6. Определение содержания лекарственных веществ в фармацевтических композициях

Содержание сальбутамола в композициях и прототипах порошковых форм для вдыхания определяли УФ-спектрофотометрически согласно [85]. Взвешенный образец растворяли в

мерной колбе на 25 мл в 0,1 N HCl. Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре Cary 50 (Varian) в интервале 200-400 нм по интенсивности полосы при 276 нм и рассчитывали количество сальбутамола по калибровочной кривой. Все эксперименты проводились трижды.

Содержание будесонида в композициях определяли УФ-спектрофотометрически согласно [86]. Раствор стандартного образца будесонида готовили, растворив 20 мг будесонида в растворителе (смесь воды и ацетонитрила 68:32) до концентрации 100 мкг/мл. Серию калибровочных растворов с концентрациями от 7 до 18 мкг/мл приготовили из исходного раствора, разбавляя в растворителе. Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре Cary50 в интервале 200-400 нм по интенсивности полосы при 245 нм. В качестве раствора сравнения использовали раствор глицина в растворителе. Калибровочную кривую строили в координатах концентрация растворов – интенсивность поглощения. Для определения будесонида в композиционном образце выполняли следующую процедуру. Взвешенный образец растворяли в мерной колбе на 25 мл в растворителе. Измеряли оптическую плотность этого раствора и рассчитывали количество будесонида по калибровочной кривой. Все эксперименты проводились четырежды.

2.5.7. Определение динамики растворения

Изучение сравнительной динамики растворения проводили в дистиллированной воде. Условия растворения: аппарат — Varian 705 DS, температура — 37.5°C, скорость вращения лопасти — 100 об/мин, объем среды растворения — 250 мл. Последовательный отбор проб проводили через 5, 10, 15, 20, 30, 45, 75, 120, 180, 240 мин по 5 мл, причем такой же объем раствора добавлялся в среду растворения для сохранения объема. Полученные пробы охлаждали при комнатной температуре в течение 20—30 мин, затем фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента». Количественный анализ проводили методом УФ-спектрофотометрии. Оптическую плотность проб измеряли на спектрофотометре Cary 50 (Varian), оснащенной программой для обработки данных, при длине волны 222 нм (ибупрофен) [87] в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения брали тот же раствор, который использовался в качестве среды растворения. Для получения статистически достоверных результатов исследование проводили не менее 4 раз для каждого образца.

2.5.8. Тесты по определению разрушающего усилия таблеток

Эксперименты по определению способности к прессованию проводили с использованием испытательной машины Zwick/RoellZ010 (максимальное усилие на траверсе

10 kH). Все эксперименты проводили с использованием предварительного уплотняющего усилия 200 Н; скорость перемещения траверса 10 мм/мин. Эксперименты, как с поликристаллическими образцами исходных субстанций, так и с образцами, полученными в данной работе, проводили без использования добавок, облегчающих скольжение. Диаметр пресс-формы 6 мм, масса образца 100±5 мг. Диапазон использовавшихся уплотняющих усилий: 100 - 300 МПа; в каждой серии проводилось не менее 5 измерений. Сразу же после выхода из пресс-формы таблетку обеспыливали, взвешивали на аналитических весах с точностью 0.0001 г; толщину и диаметр измеряли с помощью микрометра с плоскими губками (Mitutoyo, Japan) с точностью 0,01 мм. Силу, необходимую для разрушения таблетки, поставленной на ребро, определяли сразу же после снятия размеров таблеток с использованием испытательной машины Zwick/RoellZ010. Прочность таблеток (МПа) рассчитывалось согласно формуле [88] $Q= 2H / \pi dh$, где H – сила (Н), необходимая для разрушения таблетки, d – диаметр (мм), h – толщина таблетки (мм). Каждое значение рассчитано для 5 измерений.

2.5.9. Определение респирабельной фракции

Исследование аэродинамических характеристик и определение респирабельной фракции образцов проводили с помощью каскадного импактора Андерсена (Westech, Англия) с использованием ингалятора CDM Haler® при скорости потока 60 л/мин (объем 4 л). Импактор состоит из 8 каскадов со съемными собирательными тарелками (пластинами) емкостью около 10 мг и итоговой ступени с фильтром. Каждый из каскадов имеет свой диапазон оседающих на нем частиц: каскад 0 9,0 - 10,0 мкм, каскад 1 5,8 - 9,0 мкм, каскад 2 4,7 - 5,8 мкм (гортань), каскад 3 3,3 - 4,7 мкм (трахея и главные бронхи), каскад 4 2,1 - 3,3 мкм (вторичные бронхи), каскад 5 1,1 - 2,1 мкм (терминальные бронхи), каскад 6 0,7 - 1,1 мкм (альвеолы), каскад 7 0,4 - 0,7 мкм (альвеолы).Ступени встраиваются друг в друга и закрепляются с помощью трех пружинных зажимов. Между ступенями помещены резиновые прокладки. Каждая ступень импактора содержит ряд отверстий с точными размерами, через которые проходит воздух, направляющий частицы аэрозоля к поверхности собирательной тарелки данной ступени. Численность отверстий увеличивается от ступени к ступени сверху вниз, при этом диаметр соответствующих отверстий уменьшается в том же направлении. Снижение в диаметре отверстий в каждой последующей ступени приводит к повышению скорости потока, с которой частицы аэрозоля проходят через импактор. В каждую ступень помещена собирающая тарелка, которая крепится на три выступа на стенках ступени. Частицы, которые не были собраны на данной ступени, продуваются потоком воздуха в следующую ступень. Наверху первой ступени предусмотрена стальная конусообразная насадка, обеспечивающая сочленение индукционного

порта с импактором [89]. После фильтра находится насос, создающий поток, и регулятор скорости потока.

В данной работе пластины и внутреннюю поверхность Г-образной трубки смазывали глицерином (рис. 2.6).

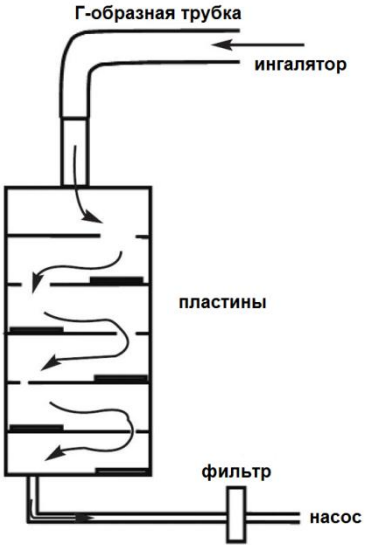

Рис. 16. Схема каскадного импактора Андерсена

2.5.9.1. Определение респирабельной фракции композиций сальбутамола

Порошок фасовался в капсулы Capsugel® (материал Hypromellose), размер капсул №3, 50 мкг сальбутамола/доза, 20 доз. Все эксперименты проводились трижды. Растворитель: вода и ацетонитрил 50:50. Количественный ВЭЖХ-анализ проводился при следующих условиях хроматографирования: колонка LiChrospher 100 RP-18. 5 мкм, 150x4 мм; подвижная фаза: фосфатный буфер pH 3,2 / ацетонитрил 68:32; скорость потока подвижной фазы: 0.5 мл/мин; температура колонки 25°C, объем ввода 20 мкл; длина волны 276 нм. Респирабельную фракцию рассчитывали как сумму содержаний сальбутамола на ступенях импактора со 2 по фильтр (в процентах от выпущенной дозы).

2.5.9.2. Определение респирабельной фракции композиций будесонида

Порошок фасовался в капсулы Capsugel® (материал Hypromellose), размер капсул №3, 50 мкгбудесонида/доза, 10 доз. Все эксперименты проводились трижды. Растворитель: вода и ацетонитрил 70:30. Количественный ВЭЖХ-анализ проводился при следующих условиях хроматографирования: колонка Zorbax Eclipse XDB – C18, 4,6x150 мм, 5 мкм; подвижная фаза: фосфатный буфер pH 3,2/ацетонитрил 68:32; температура колонки 25°C; объем ввода 20 мкл;

длина волны 242 нм. Респирабельную фракцию рассчитывали как сумму содержаний будесонида на ступенях импактора со 2 по фильтр (в процентах от выпущенной дозы).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1. Разработка метода получения фармацевтических композиций глицин-сальбутамол, лактоза-сальбутамол, глицин-будесонид.

3.1.1. Исследование фазообразования в системе $NaCl-H_2O$

На модельной системе $NaCl-H_2O$ были проведены исследования по определению возможности влияния изменением скорости охлаждения на образование стеклообразных или аморфных фаз в выбранных условиях и, как следствие возможности влияния на размер образующихся частиц. Раствор $NaCl-H_2O$ с содержание растворенного вещества 12.5 масс. % (граница полной гидратации раствора) замораживали различными способами. Вариант А заключался в распылении раствора в емкость с жидким азотом, при этом скорость охлаждения составляла около 10^4 градус/сек. Вариант Б заключался в распылении раствора на поверхность медной платины, охлажденной до температуры жидкого азота, при этом достигалась скорость охлаждения около 10^6 градус/сек. Полученные смеси фаз изучали методом порошковой дифрактометрии с использованием синхротронного излучения. Полученные дифрактограммы представлены на рис. 17. В случае А на ренгенограммах, записанных при -192°С присутствуют

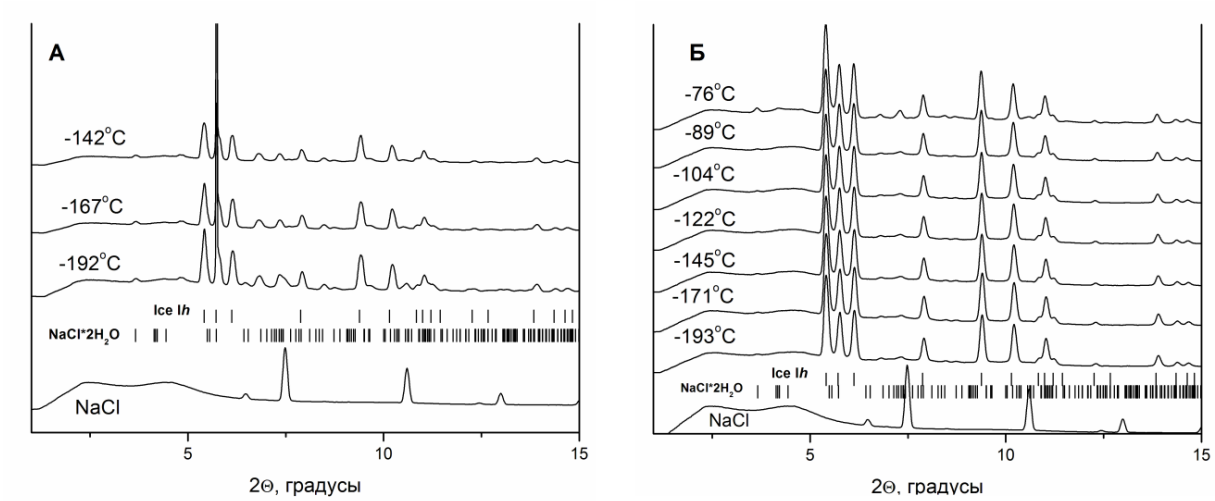

Рис. 17. Дифрактограммы замороженных растворов $NaCl-H_2O$, охлажденных с различной скоростью. А – охлаждение распылением в емкость с жидким азотом, Б – распыление на медную пластину, охлажденную до температуры жидкого азота.

рефлексы, относящиеся к фазе $NaCl \cdot 2H_2O$, а в случае Б наблюдается лишь 2 рефлекса фазы гидрата очень малой интенсивностью, которые при повышении температуры растут, а также появляются новые рефлексы. В обоих случаях при охлаждении происходит кристаллизация льда, либо кристаллизация происходит при температуре жидкого азота в контейнере для хранения образцов, что крайне маловероятно. Таким образом, при охлаждении на медной пластине ($W_{охл}$~10^6 градус/с) происходит аморфизация растворенного вещества, в отличие от

охлаждения распылением в жидкий азот. Данный способ предпочтительно использовать для получения новых метастабильных полиморфных модификаций [90].

3.1.2. Моделирование фазовой диаграммы NaCl-вода в области низких давлений и температур.

Данное моделирование с использованием простейшей системы, необходимо для нахождения вариантов строения фазовых диаграмм трехкомпонентных систем (ЛВ-легкокипящая жидкость - вода).

Система $NaCl-H_2O$ при 1 атм. представляет собой бинарную систему с образованием одного инконгруентно плавящегося соединения, без полиморфизма (рис. 18). Особые точки: Лед+$NaCl{\cdot}2H_2O$ (-21.2°C, концентрация соли (C_{NaCl}) 23.3 %), $NaCl{\cdot}2H_2O$+ NaCl (-0.15°C, C_{NaCl} 26.3 %). Из этой диаграммы следует, что при проведении сублимационной сушки при 1 атм., необходимо выбирать температуру не выше - 21.2°C, при концентрации соли до 63 масс. % (состав дигидрата), иначе в системе будет происходить образование жидкости. При C_{NaCl} более 63 % появление жидкости в системе будет наблюдаться выше -0.15°C. Данные концентрации в фармацевтической промышленности не используют. Процесс сублимационной сушки, возможно, проводить при более низких давлениях (вплоть до 100 Па).

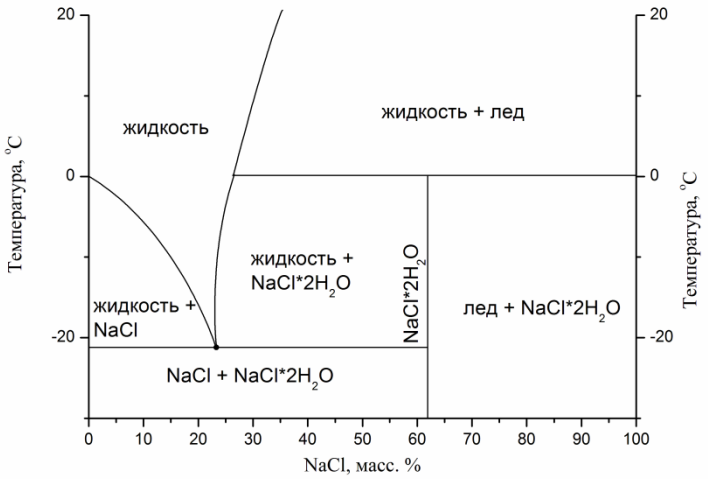

Рис. 18. Фазовая диаграмма $NaCl-H_2O$ при 1 атм [91].

Из классического термодинамического рассмотрения гетерогенных равновесий следует, что на PT – диаграмме бинарной системы $NaCl-H_2O$ будут присутствовать 2 квадрупольные точки (нонвариантные равновесия, сосуществование 4 фаз одновременно). Соль это труднолетучий компонент и в нонвариантном равновесии гидрат, жидкость, лед и пар; лед и пар имеют одинаковый состав – сингулярны, NaCl и жидкость (раствор NaCl в воде) –

индифферентны, т.е. изменение концентрации соли в жидкости не влияет на состав пара. Таким образом, ход кривой сублимации льда в однокомпонентной системе будет совпадать с кривыми равновесия лед-гидрат-газ и лед-жидкость-газ, что приведет к выраждению на Px и Tx проекциях и на соответствующих сечениях [37]. Все вышесказанное представлено на рис. 19.

На рис. 20 представлены характерные Tx-сечения бинарной системы NaCl-H_2O при давлениях P_1, P_2 и P_3 (взаимное расположение указано на рис. 19). Из представленных сечений видно, что при давлении P_1 даже при высоких температурах не будет происходить образования жидкости, но P_1 очень низкое давление и будет практически не возможно проводить при этом давлении процесс. При P_3 жидкость будет появляться раньше чем при P_2. Следует проводить сублимационную сушку при давлениях, расположенных между двумя квадрупольными точками (эвтектикой (лед, газ, жидкость, гидрат) и перетектикой (гидрат, газ, жидкость, соль))

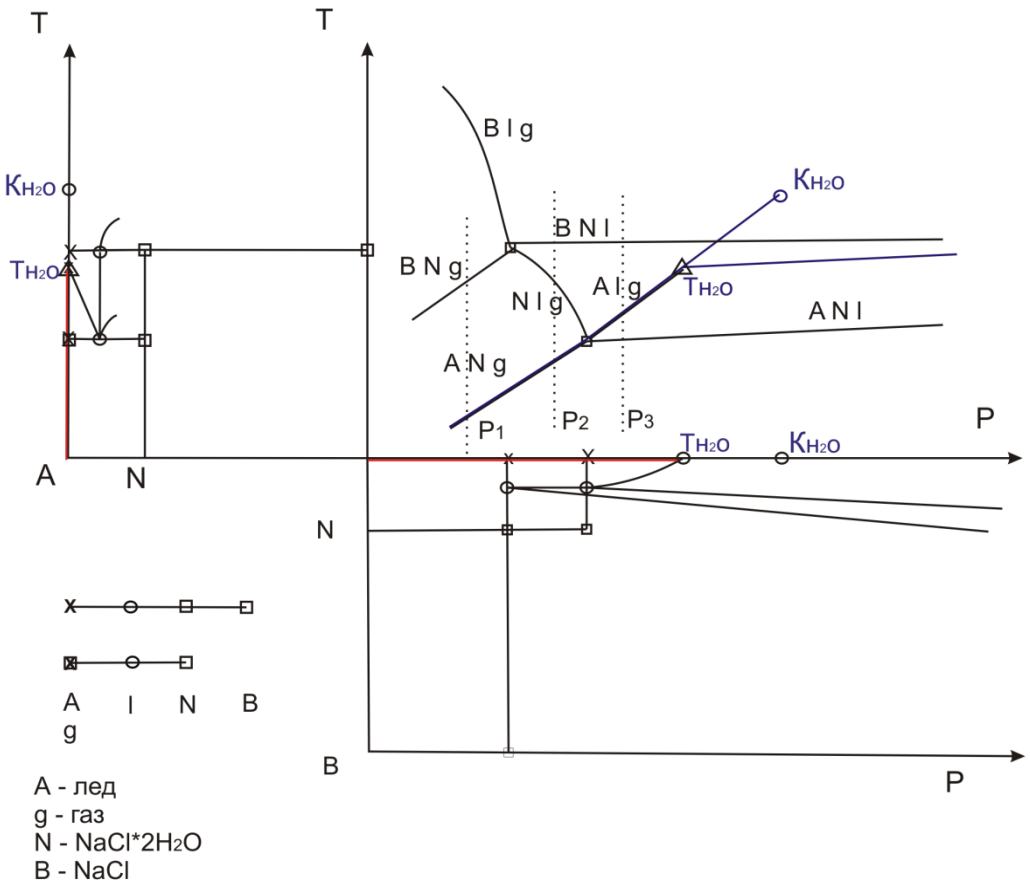

Рис. 19. PT диаграмма бинарной системы NaCl-H_2O и Px, Tx проекции, T_{H2O}-тройная точка воды, K_{H2O}-критическая точка воды.

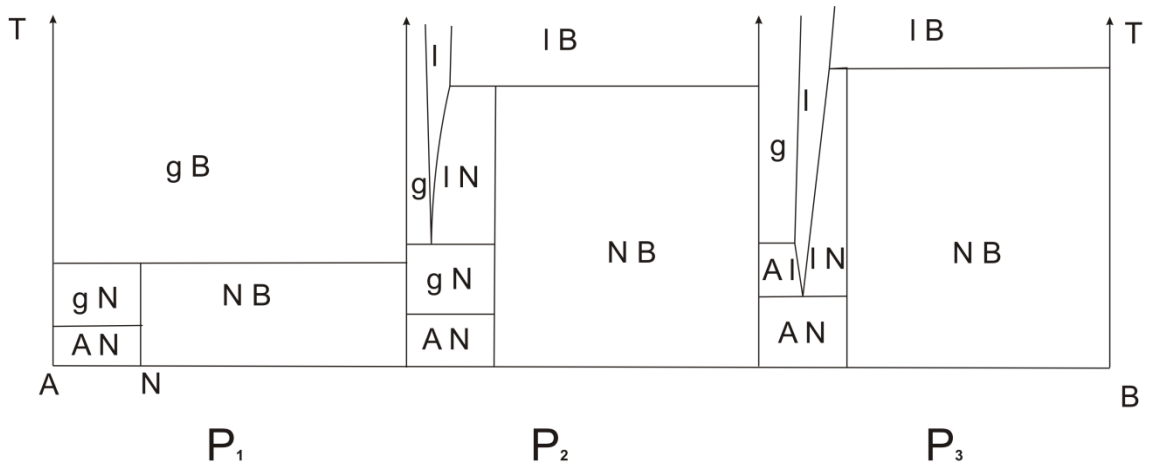

Рис. 20. Тх сечения бинарной системы NaCl-H_2O, обозначения фаз: A-лед, N-NaCl*2H_2O, g-газ, l-жидкость, B-NaCl.

3.1.3. Исследование фазообразования в системе модельное ЛВ-ТГФ-вода

На рис. 21 представлены порошковые дифрактограммы замороженного раствора модельного ЛВ, парацетамола, в растворе ТГФ – вода состава гидрата при различных температурах. На дифрактограммах в температурном интервале от -196°С до -60°С не наблюдается появления рефлексов, относящихся к парацетамолу (ни к моноклинному, ни к ромбическому), а также парацетамол-содержащих фаз (тригидрата парацетамола и др.). На основании данного эксперимента можно предположить механизм замерзания капель в рассматриваемых системах. Вследствие различной химической природы и кристаллической структуры фаз, образовавшихся при использовании данного способа охлаждения исходного раствора (гидрат КС II ТГФ: *Fd3m*, лед I*h*: *P6$_3$/mmc,* парацетамол: *P2,/n,*), образование сколько-нибудь протяженной области гомогенности в подсистемах «лед I*h* - парацетамол» и «гидрат КС II ТГФ — парацетамол» представляется крайне маловероятным. После распыления раствора в жидкий азот возникают капли сильно переохлажденной гомогенной жидкости, в которых происходит быстрая кристаллизация фаз гидрата и льда. Зародыши фазы парацетамола не успевают образоваться, по всей вероятности, из-за меньшей скорости зародышеобразования и меньшей концентрации парацетамола в растворе. В итоге, происходит вытеснение аморфной фазы парацетамола в пространство между образовавшимися кристаллитами. Таким образом, получающиеся при удалении растворителей сублимацией из замерзших капель ажурная структура парацетамола представляют собой объемную границу раздела между кристаллитами (размерами до 5 мкм.) клатратного гидрата и льда I*h* [92, 93].

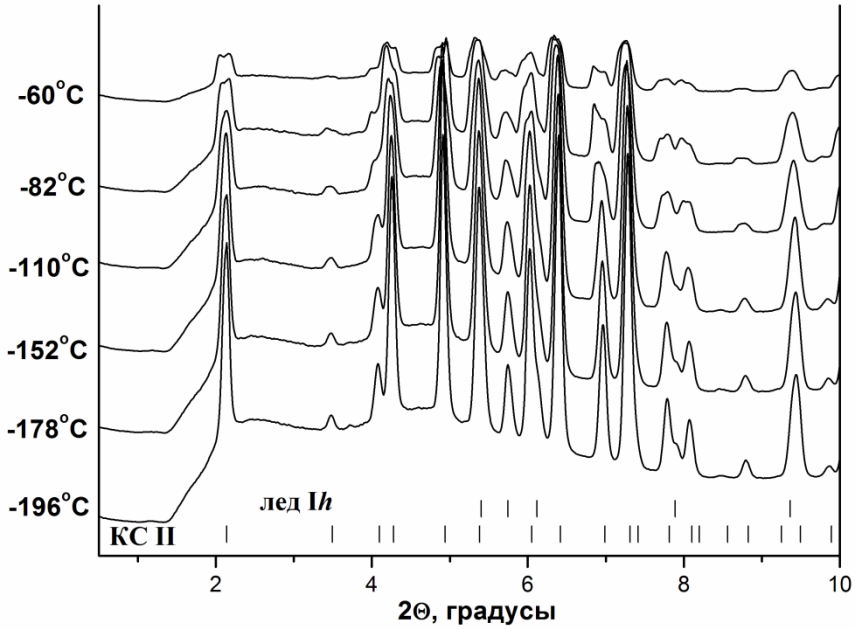

Рис. 21. Порошковые дифрактограммы замороженного раствора парацетамол (10 масс. %)-ТГФ (21.9 масс. %)-вода при различных температурах и атмосферном давлении [94].

3.1.4. Определение температурных режимов сушки для создания высокодисперсных композиций сальбутамола и будесонида.

Препараты на основе сальбутамола и будесонида используют в терапии бронхиальной астмы и ХОБЛ. Субстанции этих ЛВ обладают низкой растворимостью в воде и низкой смачиваемостью. Их микронизированные субстанции обладают большой тенденцией к агрегации. Сальбутамол и будесонид растворимы в большинстве органических растворителей и этиловом спирте. В качестве наполнителя были выбраны лактоза, как самый популярный наполнитель в сухих порошковых ингаляторах, и глицин – широко используемый низкомолекулярный наполнитель в фармацевтических композициях, получаемых сублимационной сушкой. Раствор для получения фармацевтических композиций выбрали, опираясь на предыдущие исследования на модельном ЛВ – парацетамоле [95]. В этой работе было показано, что использование системы ТГФ-вода предпочтительнее системы ацетон-вода благодаря нескольким причинам. Клатратный гидрат ТГФ·17H_2O плавится конгруентно при 1 атм, в отличие от гидрата ацетона (рис. 10), после быстрого охлаждения в системе ацетон-вода не происходит полного образования гидрата и остается не прореагировавший твердый ацетон, температура плавления, которого составляет около -94°C (см. Таблицу 2). Удельная площадь поверхности образцов парацетамола, полученных из растворов ТГФ-вода, была на несколько

порядков выше, чем у порошков, полученных из растворов ацетон-вода. Вероятнее всего в системе ацетон-вода происходило плавление твердого ацетона.

Результаты дифракционного исследования процессов, происходящих при отжиге замороженного раствора глицина в смешанном растворителе ТГФ-вода (~ 20 масс. % ТГФ), представлены в таблице 6.

Таблица 6. Фазы, находящиеся в системе глицин-ТГФ-вода при различных температурах

Температурный интервал	Давление	Сосуществующие фазы	Комментарии / Интерпретация
-120 - -65°C	атмосферное	Гидрат КС-II ТГФ + лед I*h*	Кристаллические фазы, образовавшиеся при быстром охлаждении раствора глицин-ТГФ -вода.
-60 - -50°C	атмосферное	Гидрат КС-II ТГФ+ лед I*h* + X-глицин	При отжиге аморфной фазы глицина, образующейся при быстром охлаждении раствора, образуется низкотемпературная фаза глицина.
-40 - -10°C	атмосферное	Гидрат КС-II ТГФ+ лед I*h* + *β*-глицин	Трансформация X-глицина в *β*-глицин.
-5°C	10 Па	*β*-глицин	Имитация процесса сублимационной сушки в камере дифрактометра. Гидрат КС-II ТГФ + лед I*h* удалены сублимацией.

Результат ДСК экспериментов показывает (рис. 22), что после быстрого охлаждения в системы глицин-ТГФ-вода, глицин находится в стеклообразном состоянии, а затем около -50°C кристаллизуется в неизвестную фазу глицина, а затем в *β*-глицин. Это подтверждает данные РФА.

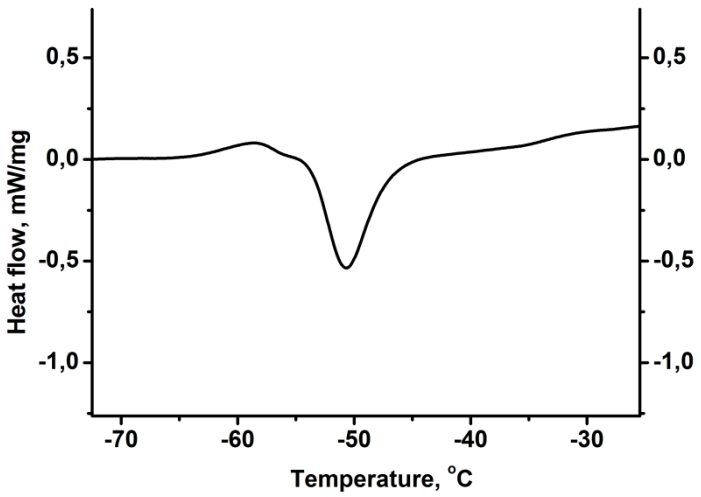

Рис. 22. Кривая ДСК, полученная для замороженного раствора глицин-ТГФ-вода.

Таким образом, из результатов проведенных предварительных экспериментов и анализа литературы следует:

1. Лимитирующей стадией сушки становится удаление клатратного гидрата КС-II ТГФ и льда I*h* при температурах ниже температуры плавления эвтектики в подсистеме β-глицин – вода (- 3.6°C) [96], что ниже температуры лимитирующей стадии сушки определенной как температура плавления эвтектики (~ - 1.4°C) в подсистеме «клатратный гидрат – вода (лед I*h*)», без учета влияния растворенного вещества (увеличения компонентности системы). Кроме того, поскольку в работе [97] температура плавления эвтектики в системе глицин – вода была определена как -4.7°C, без указания конкретной полиморфной модификации глицина (возможно, смесь полиморфных модификаций), мы определяем температуру -5°C как лимитирующую для основной стадии сушки (в случае возможного образования смеси полиморфных модификаций при охлаждении раствора/отжиге получающейся смеси твердых фаз).
2. Оптимальный для данного метода диапазон концентраций используемого раствора ТГФ-вода — от 5 до 25 масс. % ТГФ. При меньшем содержании ТГФ произойдет снижение растворимости ЛВ в используемом растворе (растворимость не будет существенно отличаться от растворимости в воде) и использование добавки ТГФ не будет оправдано. При большем содержании ТГФ в используемых растворах, при охлаждении с использованием указанного способа, произойдет смещение фигуративной точки системы в подсистему «клатратный гидрат-ТГФ», где уже при -109°C произойдет появление некоторых количеств жидкой фазы (раствор воды в ТГФ), что приведет к растворению и последующей кристаллизации ЛВ и, как следствие,

невозможности контролируемого получения композиций с требуемыми свойствами (в первую очередь, размер частиц, удельная площадь поверхности).

3. Оптимальный для данного метода диапазон концентраций ЛВ в рабочем растворе – до ~ 90% от растворимости при комнатной температуре, вследствие следующих причин: а) сложности работы с насыщенными растворами, обусловленной возможностью неконтролируемой кристаллизации при небольшом изменении внешних условий; б) при распылении происходит испарение некоторого количества ТГФ, вследствие чего уменьшается растворимость ЛВ в исходном растворе [93].

4. Оптимальный для создания композиций диапазон соотношений (масс.) сальбутамол:глицин - от 1:50 до 1:1 обусловлен следующим (аналогично для моногидрата лактозы). При соотношении сальбутамол:глицин менее 1:50 сильно возрастает объем навески композиции, содержащей терапевтическую дозу сальбутамола (50-100 мкг), что сделает невозможным заполнение капсул для капсульных порошковых ингаляторов (размер №3, объем 0,3 мл) без дополнительного уплотнения порошка и не будет оправдано экономически.

При соотношении сальбутамол:глицин более 1:1, разовая доза сальбутамола будет содержаться в навеске композиции массой менее 0,1-0,2 мг; максимальное количество сухих веществ будет лимитироваться растворимостью сальбутамола и будет менее 50мг/г растворителя. Таким образом, добавка в качестве вещества-носителя глицина для создания композиции и применение данного метода не будет оправдано. В таком случае, более эффективным способом создания композиции данного типа будет применение метода распылительной сушки водных растворов с использованием сульфата сальбутамола.

5. Ориентировочные данные по содержанию будесонида в разовых дозах композиций, которые использовались для расчета необходимых концентраций будесонида и глицина в смешанном растворителе ТГФ-вода (20-25 масс. % ТГФ), приведены в таблице 7. Соотношение будесонид:глицин в композиции и, следовательно, диапазон используемых концентраций глицина в используемом смешанном растворителе ТГФ-вода (20-25 масс. % ТГФ) выбирали таким образом, чтобы содержание будесонида в одной дозе композиции (5 мг либо 2.5 мг в капсуле для ингаляторов сухого порошка) находилось в диапазоне используемых терапевтических доз (от 25 мкг в 5 мг до 450 мкг в 5 мг). Таким образом, поскольку максимальное количество сухих веществ (будесонид и глицин) лимитируется растворимостью будесонида в используемом смешанном растворителе ТГФ-вода (20-25 масс. % ТГФ), то для композиций с содержанием будесонида 2 масс. % и менее целесообразно использовать концентрацию глицина 50 мг/г смешанного растворителя (при этом концентрация будесонида может варьироваться от 0,25 до 0,9 мг/г растворителя). Для создания композиций с содержанием будесонида от 2 до 10 масс.% необходимо снижать концентрацию глицина (до 8

мг/г растворителя) при использовании максимально возможной концентрации будесонида в растворе (0,9 мг/г растворителя). Снижение одновременно концентрации будесонида (от максимально возможной) и глицина для создания фармацевтической композиции с содержанием будесонида от 2 до10 масс.% экономически нецелесообразно.

Таблица 7. Содержание будесонида в разовых дозах композиций в смешанном растворителе ТГФ-вода (20-25 масс. % ТГФ)

Дозировка (мкг будесонида в дозе композиции)	Содержание будесонида, масс. %	Соотношение компонентов в растворе	
		Будесонид	Глицин
100 мкг в 5 мг	~2	20 мг	1000 мг
50 мкг в 2,5 мг	~2		
25 мкг в 5 мг	0,5	5 мг	1000 мг
450 мкг в 5 мг	~10	20 мг	200 мг
225 мкг в 2,5 мг	~10	20 мг	200 мг

3.2. Исследование физико-химических свойств фармацевтических композиций, содержащих сальбутамол или будесонид

Содержание сальбутамола в композициях, определенное УФ-спектрофотометрически, составляет: композиция с низким содержанием сальбутамола: 2,2±0,1 масс. %, композиция с максимальным содержанием сальбутамола: 17,6±1,7 масс. %, в композиции сальбутамол-лактоза: 16,8±0,5 масс. %. Содержание будесонида в композициях будесонид-глицин составило: 0,5±0,2 масс. %, 1,9±0,2 масс. % и 9,7±0,2 масс. %,

3.2.1. Порошковая дифрактометрия

Дифракционные исследования показали, что во всех полученных образцах глицин (во всех типах композиций и полученный в индивидуальном состоянии в тех же условиях) присутствует в виде *β*-модификации ($P2_1$, [81]) без примеси других полиморфных модификаций (Рис. 22, Рис. 23). Отсутствие на порошковых дифрактограммах образцов композиций иных рефлексов (отвечающих фазам сальбутамола либо будесонида), кроме соответствующих фазе β-глицина, говорит об отсутствии иных кристаллических фаз в композициях [98]. Отсутствие систематического сдвига рефлексов в область малых углов исключает возможность образования твердых растворов сальбутамола либо будесонида на основе β-глицина. Чистый *β*-глицин метастабилен и в присутствии в воздухе влаги легко переходит в *α*-форму [99], однако в составе композитов с сальбутамолом он сохраняется неопределенно долгое время.

Образцы лактозы и сальбутамол-лактоза представляют собой аморфные вещества, что проявляется в виде гало на дифрактограммах (рис. 24).

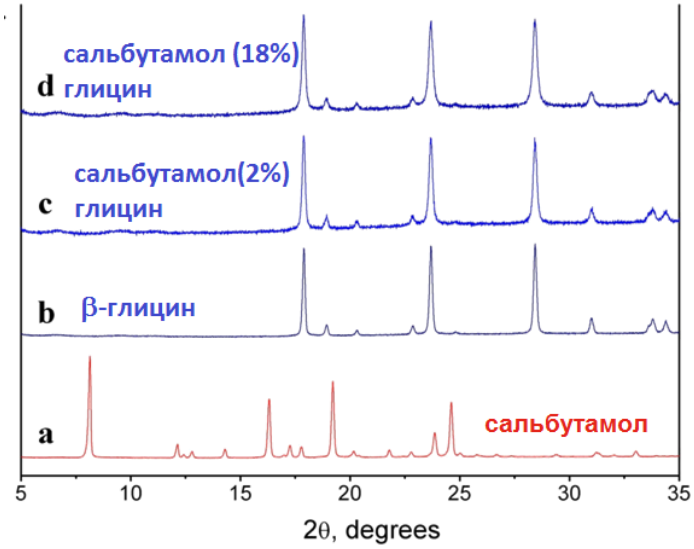

Рис. 12. Порошковые дифрактограммы образцов сальбутамол-глицин

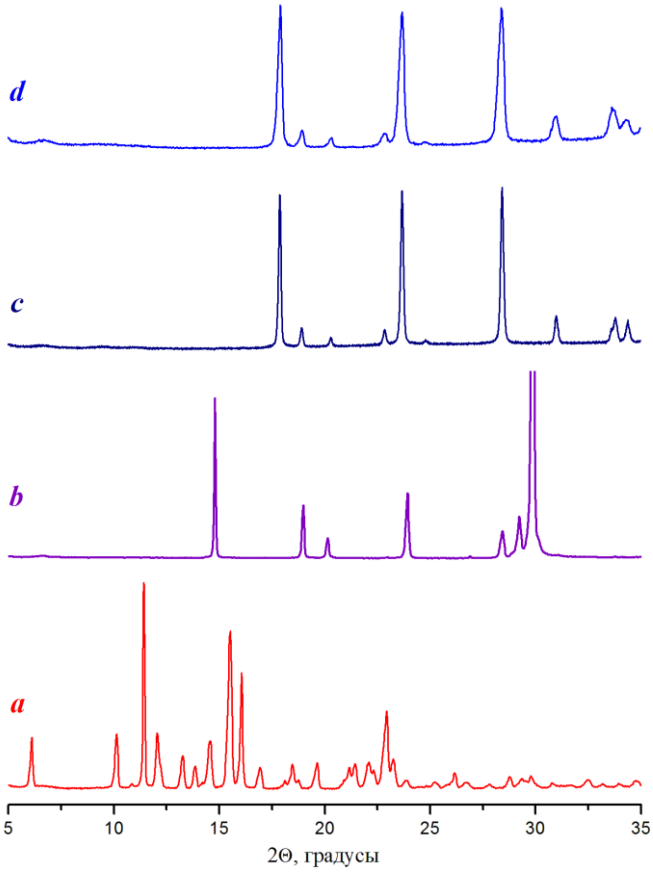

Рис. 23. Порошковые дифрактограммы исходных субстанций и полученных образцов, *a* – поликристаллический образец будесонида; *b* – поликристаллический образец исходного α-глицина; *c* - глицин, полученного в тех же условиях, что и d; *d* – будесонид-глицин

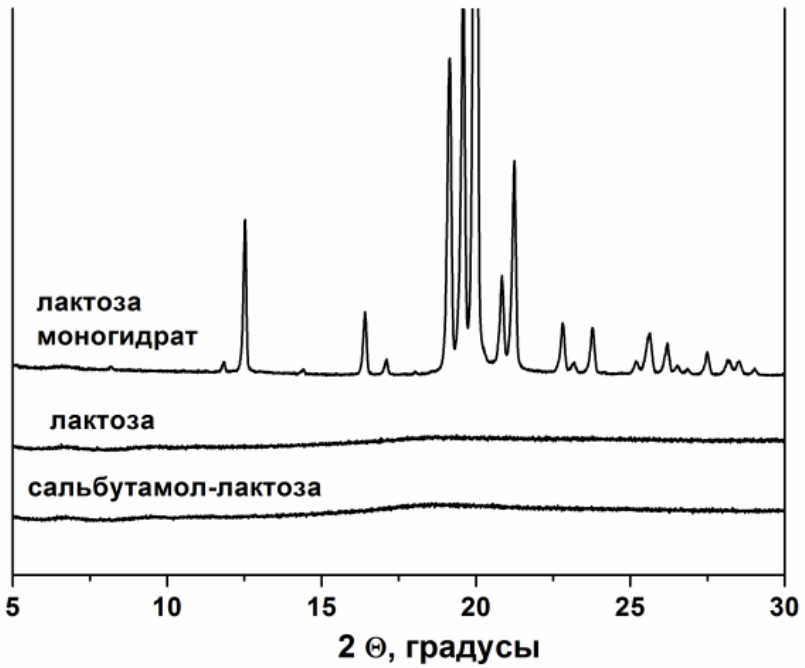

Рис. 24. Порошковые дифрактограммы образцов: α-лактозы моногидрата (исходной субстанции), лактозы и сальбутамол-лактоза, полученных в данной работе.

3.2.2. Спектроскопия КР

Спектры-КР каждого из индивидуальных веществ – компонентов комопозиций, т.е. сальбутамола (перекристаллизованный из этанола исходный реактив) и *β*-глицина (полученный в тех же условиях, что и вышеуказанные композиции) содержат узкие колебательные линии как в области межмолекулярных (кристаллических) (50-200 см$^{-1}$), так и внутримолекулярных колебаний (выше 200 см$^{-1}$) (Рис. 25). В случае композиции с содержанием сальбутамола 2 масс. % в спектре пиков, относящихся к колебаниям молекулы сальбутамола не обнаружено. Низкие интенсивности колебаний молекул сальбутамола (ниже предела обнаружения) являются следствием следующих причин:

1. Низкое содержание сальбутамола в композиции (1 молекула сальбутамола на 160 молекул (80 элементарных ячеек) *β*-глицина)
2. Низкая насыпная плотность данной композиции (~ 0.03 г/см^3)
3. Фокусировка лазерного излучения на поверхности образца с диаметром пятна около 1 мкм.

На спектрах КР композиции сальбутамол (17 масс. %)-глицин (1 молекула сальбутамола на 16 (8 элементарных ячеек) молекул *β*-глицина) наблюдаются широкие пики, относящиеся к внутримолекулярным колебаниям сальбутамола. Отсутствие линий на спектрах, относящихся к области межмолекулярных колебаний, указывают на то, что собственной кристаллической

решетки молекулы сальбутамола не образуют. Не происходит смешения положения колебательных мод молекулы глицина в фармацевтических композициях, следовательно, химического взаимодействия между глицином и сальбутамолом при комнатной температуре нет [98].

Подобная картина наблюдается в случае композиций будесонид (2 масс.%) глицин. Из спектров КР видно (Рис. 26), что каждое из индивидуальных веществ, т.е. β-глицин, будесонид характеризуются кристаллическим состоянием, выражающимся наличием в спектрах узких колебательных линий как в области межмолекулярных (кристаллических) (50-200 см$^{-1}$), так и внутримолекулярных колебаний (выше 200 см$^{-1}$). В спектрах композиций только колебательные моды β-глицина остаются в виде узких линий, сохраняя при этом неизменной область кристаллических колебаний. Моды внутримолекулярных колебаний будесонида наблюдаются как очень широкие полосы малой интенсивности, а моды кристаллических колебаний отсутствуют (ниже предела обнаружения).

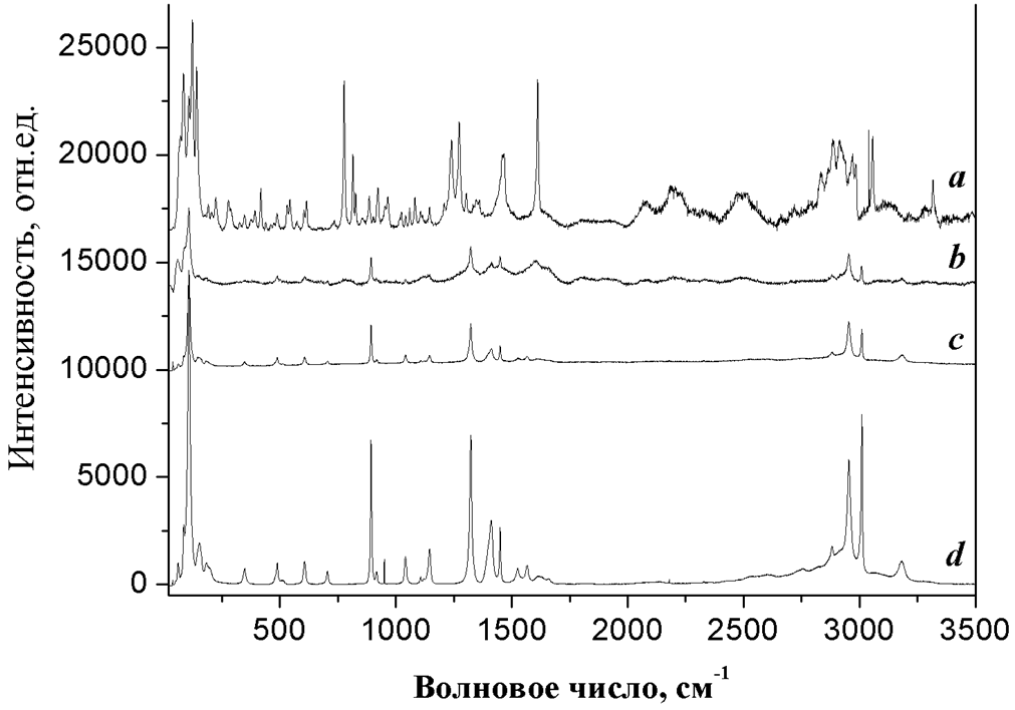

Рис. 25. Спектры КР образцов: a - сальбутамол, перекристаллизованый из этилового спирта, b – композиция сальбутамол (18 масс %) глицин, c – композиция сальбутамол (2 масс. %) глицин, d - β-глицин, полученный в данной работе. Шкала слева задает только масштаб.

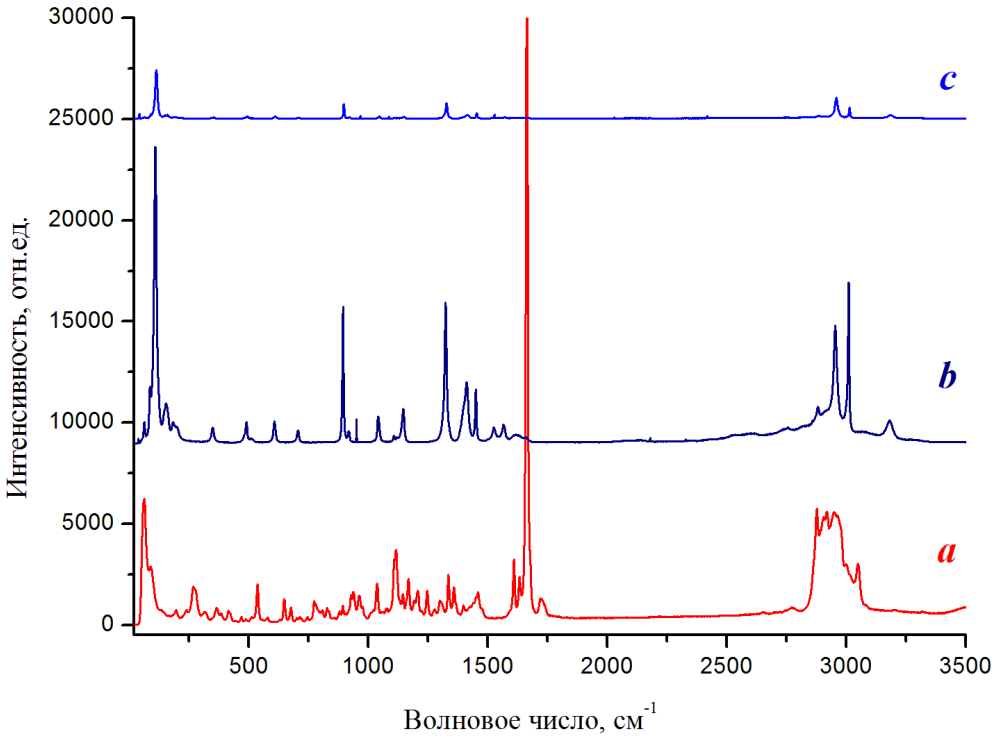

Рис. 26. Спектры КР *a* – товарный реактив будесонида; *b* – образец *β*–глицина, полученного в тех же условиях, что и вышеуказанные фармацевтические композиции; *c* – будесонид-глицин

Спектры КР образцов сальбутамола (*a*) и лактозы (*d*) характеризуют их как хорошо окристаллизованные соединения (Рис. 27). Спектры образцов лактозы (*c*) и сальбутамол-лактозы (*b*), полученных в данной работе, состоят из широких полос, характерных для аморфных соединений (с отсутствием дальнего порядка). Сильное уширение полос как в области кристаллических мод (50-200 см$^{-1}$), так и в области валентных С-Н колебаний (2800-3000 см$^{-1}$), свидетельствует об аморфизации и отсутствии ближнего порядка. В выбранных условиях получения композиции «сальбутамол-лактоза», сальбутамол не образует собственную кристаллическую фазу (*b*); лактоза также не образует поликрислическую фазу ни в индивидуальном состоянии (*c*), ни в композиции (*b*). Относительно высокое содержание сальбутамола в композиции (на 1 молекулу сальбутамола приходится ~3,4 молекулы лактозы), и отсутствие признаков образование кристаллической фазы хотя бы одним из компонентов свидетельствует о том, что в полученной композиции молекулы обоих компонентов распределены равномерно.

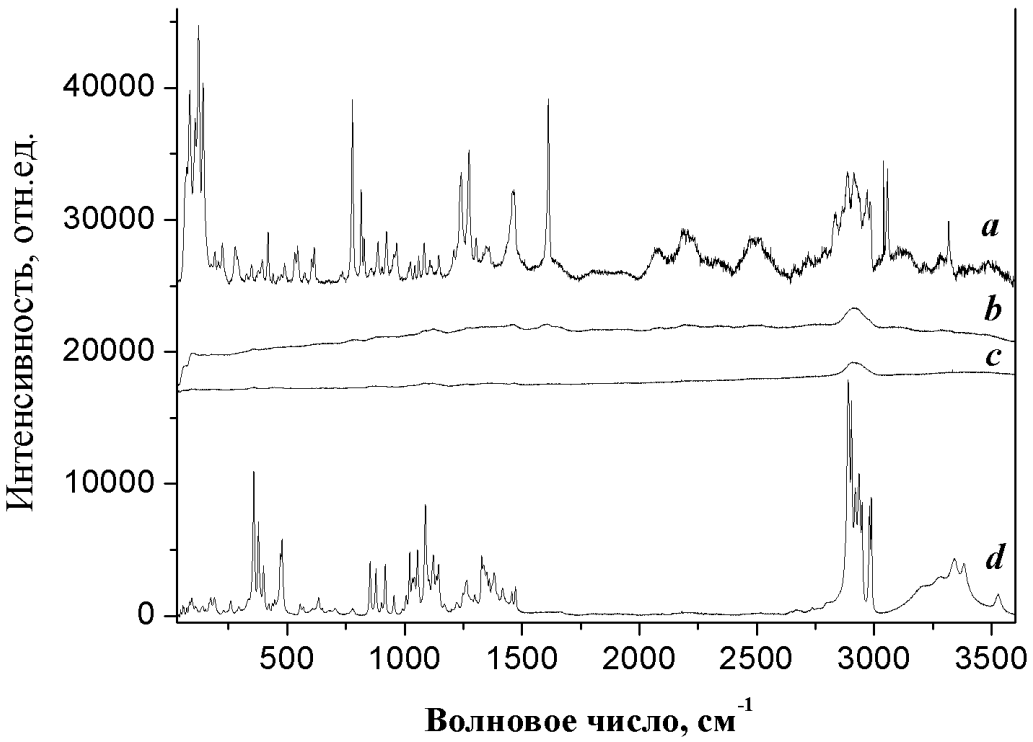

Рис. 27. Спектры КР образцов: *a* – поликристаллический образец сальбутамола, приготовленный перекристаллизацией из этанола; *b* – фармацевтическая композиция сальбутамол-лактоза; *c* – образец лактозы, полученной в тех же условиях; *d*– поликристаллический образец моногидрата лактозы (исходная субстанция)

3.2.3. ДСК и ТГ-исследования

В случае физической смеси исходный сальбутамол (17 масс. %) – β-глицин, на кривых ДСК (Рис. 28) наблюдается пик плавления, что свидетельствует о наличии кристаллической фазы сальбутамола, а в случае композиции сальбутамол (17 масс.%)-глицин пик плавления как таковой уже не просматривается. При приближении к температуре плавления массивного сальбутамола (159.4°C) в этом образце происходят какие-то процессы, сопровождающиеся последовательностью экзо- и эндоэффектов. Суммарный тепловой эффект этих процессов близок к нулю и достоверно во много раз меньше эндотермического эффекта плавления сальбутамола в физической смеси. Образец композиции сальбутамол-глицин (~ 2 масс. %) не проявляет никаких тепловых эффектов в исследуемом температурном интервале.

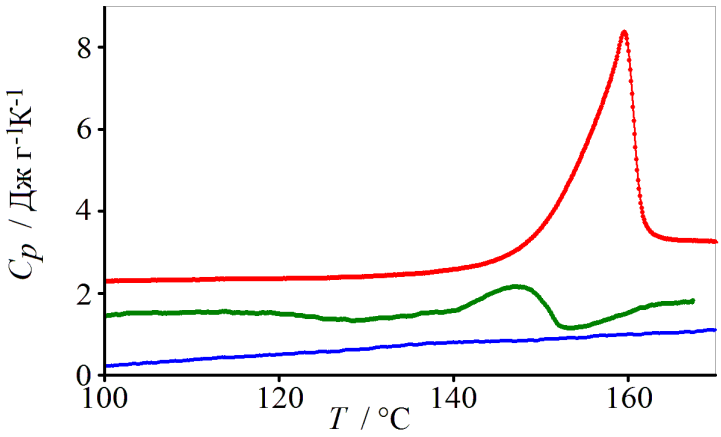

Рис. 28. ДСК-кривые образцов: красная – физическая смесь сальбутамола (17 масс. %) с *β*-глицином, зеленая – композиция сальбутамол (17 масс. %)-глицин, синяя – композиция сальбутамол (2 масс.%)-глицин. Шкала теплоёмкости задаёт только масштаб.

Результаты термогравиметрического анализа образцов с лактозой в качестве наполнителя показали, что при нагревании исходной субстанции до ~ 160°С происходит потеря ~5 % массы образца (рис. 29), что соответствует расчетной потере массы, соответствующей удалению воды из моногидрата лактозы. Потери массы, определенные при нагревании образцов лактозы и композиции сальбутамол-лактоза, полученных сублимационной сушкой, составляют около 3%, что можно объяснить повышенной способностью данных препаратов поглощать влагу воздуха вследствие большой удельной площади поверхности и аморфным состоянием образцов.

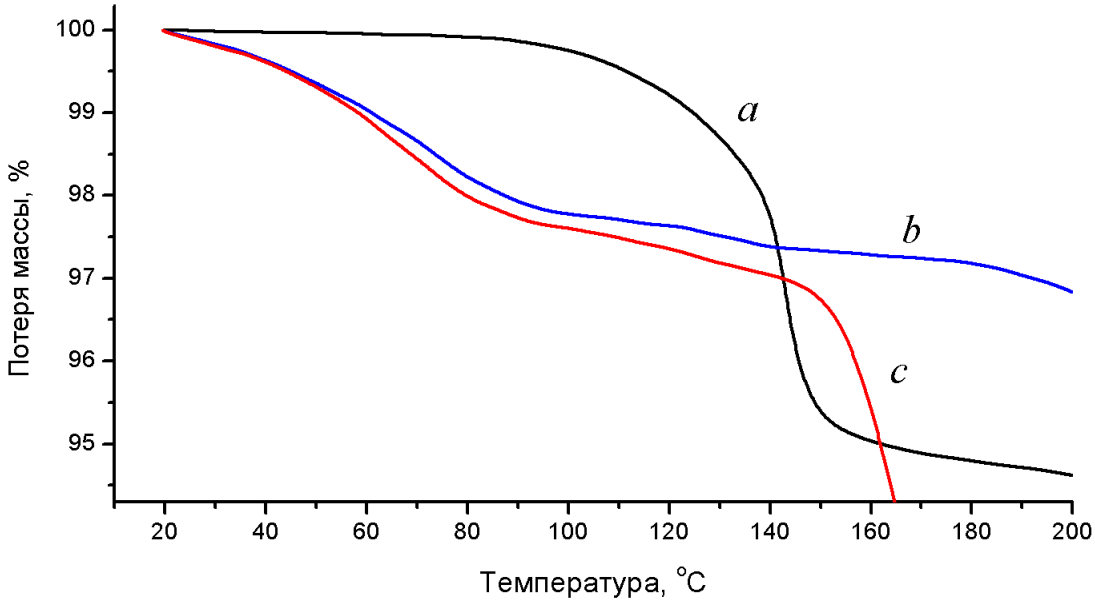

Рис. 29. ТГ кривые образцов: *a* – поликристаллический образец моногидрата лактозы (реактив); *b* – образец лактозы, полученной в тех же условиях, что и композиция

сальбутамол-лактоза; *c* –композиция сальбутамол-лактоза.

3.2.4. Морфология и размер частиц

Полученные образцы композиций сальбутамол – глицин представляют собой свободно текучие порошки с низкой насыпной плотностью, не склонные к агрегации при хранении в течение длительного времени (Рис. 30). Значения удельной площади поверхности образцов, вычисленные по сорбции/десорбции N_2, представлены в таблице 8. Из полученных значений видно, что происходит увеличение дисперсности образцов при увеличении содержания сальбутамола.

Таблица 8. Значения удельной площади поверхности

α-глицин (исходный реактив)	β-глицин, полученный в тех же условиях	сальбутамол (2 масс %) – глицин	сальбутамол(17 масс.%) – глицин
0,02±0,01 $м^2$/г.	9,8±0,1 $м^2$/г	24,4±0,5 $м^2$/г	29.1±0.6 $м^2$/г

Рис. 30. Сравнение насыпных объемов образцов композиции сальбутамол (2 масс. %)-глицин (справа) и исходных субстанций микронизированного сальбутамола и α-глицина (слева). Навески по 0,465 г. В емкости объемом около 20 мл содержится ~ 180 разовых доз (по 50 мкг).

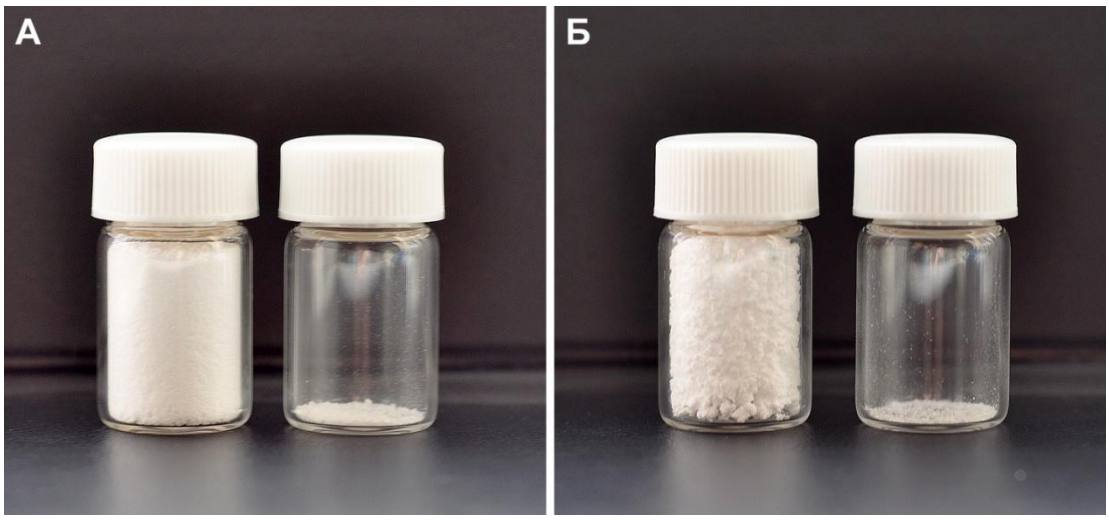

Рис. 31. Сравнение насыпных объемов образцов: А композиции будесонид(2.3 масс.%)-глицин (слева) и исходных товарного реактива будесонида и α-глицина (справа). Навески по 0.14 г. В емкости 7 мл. содержится более 60 разовых доз по 50 мкг; Б: образцы композиции будесонид(9,7 масс. %)-глицин (слева) и исходных товарного реактива будесонида и α-глицина (справа). Навески по 0.06 г. В емкости 7 мл. содержится 25 разовых доз по 200 мкг (или примерно 12 разовых доз по 400 мкг)

Образцы композиции будесонид – глицин, полученные по предлагаемому способу, также представляют собой легкие пушистые порошки. На рис. 31 проиллюстрировано сравнение насыпных объемов полученных композиций и исходных субстанций товарного реактива будесонида и α-глицина.

По данным сканирующей электронной микроскопии (рис. 32, 34, 35) полученные образцы сальбутамол-глицин и будесонид-глицин представляют собой совокупность хрупких сферических агломератов, размеры которых можно изменять в довольно широких пределах от 30 до 100 мкм, варьируя параметры распыления исходного раствора. При механическом воздействии происходит их разрушение. По данным фрагментам можно определить размеры кристаллитов льда и гидрата ТГФ, образующихся при быстрой заморозке исходного раствора [100].

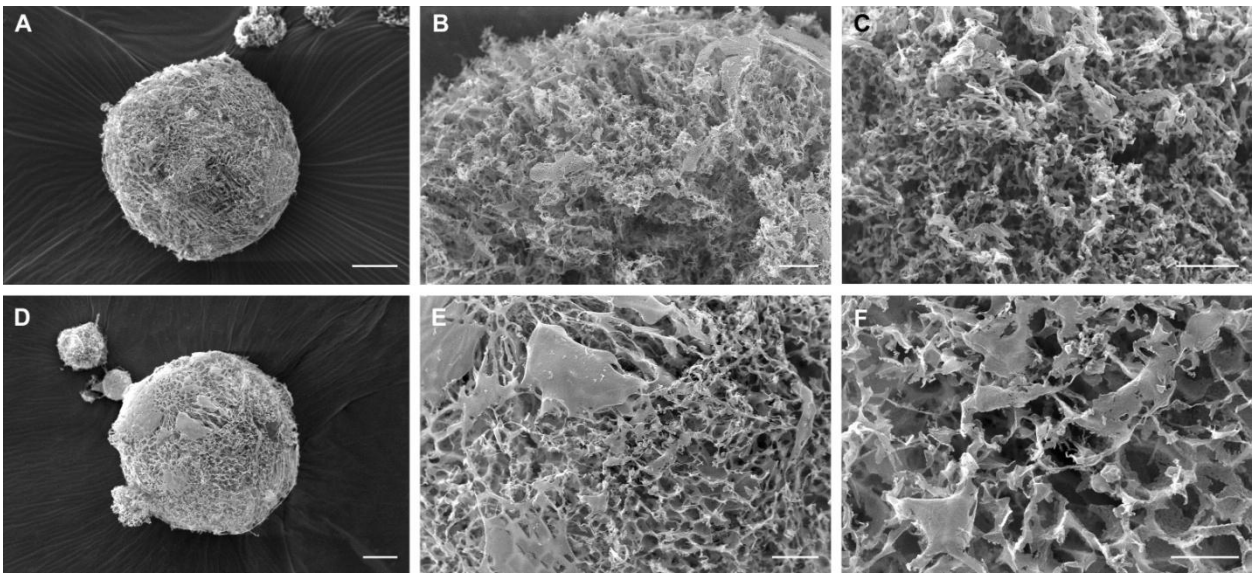

Рис. 32. Снимки СЭМ композиций сальбутамол (2 масс. %)-глицин (A-C) и сальбутамол (17 масс. %) (D-F), На фотографиях (B, C) и (E, F) показаны те же образцы, что и на (A) и (D), соответственно, но с более высоким разрешением. Масштабный отрезок: *A, D* – 10 мкм; *B, E* – 4 мкм; *C, F* – 2 мкм.

Образцы композиций сальбутамол-лактоза также представляют собой легкие высокотекучие порошки без склонности к агломерации частиц при хранении. На рис. 33 приведены электронные микрофотографии образцов высокодисперсной композиции сальбутамол-лактоза (*a, b*), высокодисперсной лактозы, полученной в тех же условия (*c, d*), исходных субстанций лактозы и микронизированного сальбутамола (*f*). При этом, размеры агломератов могут быть легко изменены в довольно широких пределах варьированием параметров распыления исходного раствора.

Удельная площадь поверхности образцов с лактозой показана в таблице 9. Из таблицы видно, что площадь поверхности образцов, полученных в данной работе на несколько порядков выше площади поверхности исходной субстанции. Данные таблицы 9 и таблицы 8 показывают, что гидрофобный сальбутамол увеличивает дисперсность гидрофильных наполнителей (глицина, лактозы) после сублимационной сушки.

Таблица 9. Значения удельной площади поверхности

моногидрат лактозы (исходный реактив)	лактоза, полученная в тех же условиях	сальбутамол-лактоза
0,14±0,02 $м^2$/г.	12,2±0,4 $м^2$/г	36,9±0,6 $м^2$/г

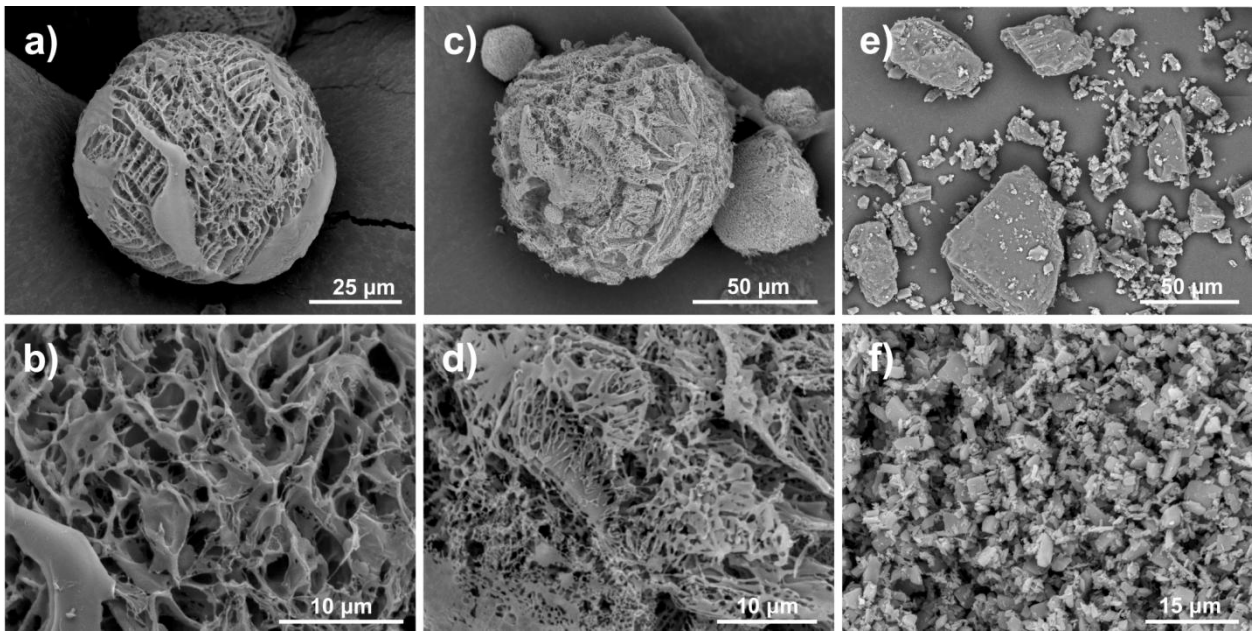

Рис. 33. Снимки СЭМ, a), b) – композиция сальбутамол-лактоза, c), b) - лактоза, полученная в тех же условиях, что и сальбутамол-содержащая композиция, e) исходная субстанция лактозы, f) микронизированная субстанция сальбутамола

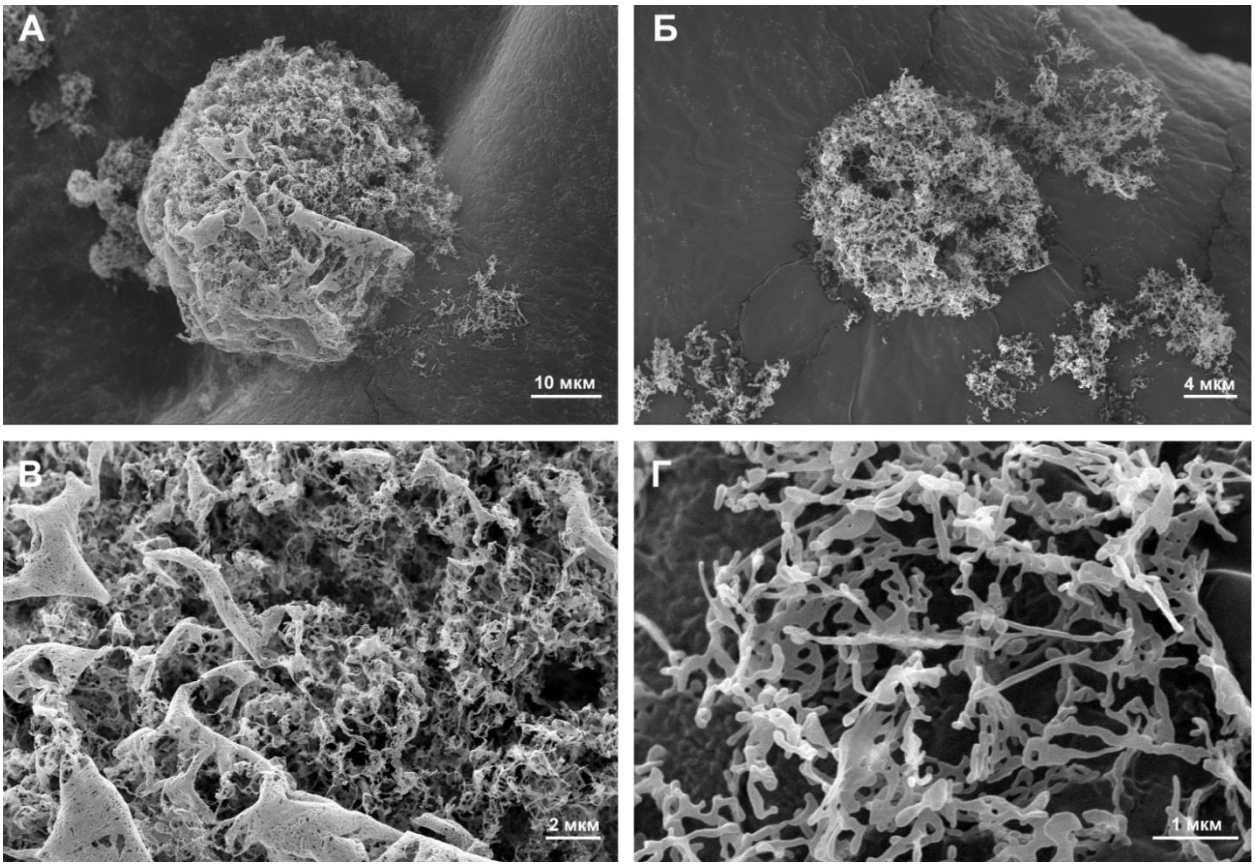

Рис. 34. Снимки СЭМ композиции будесонид-глицин.

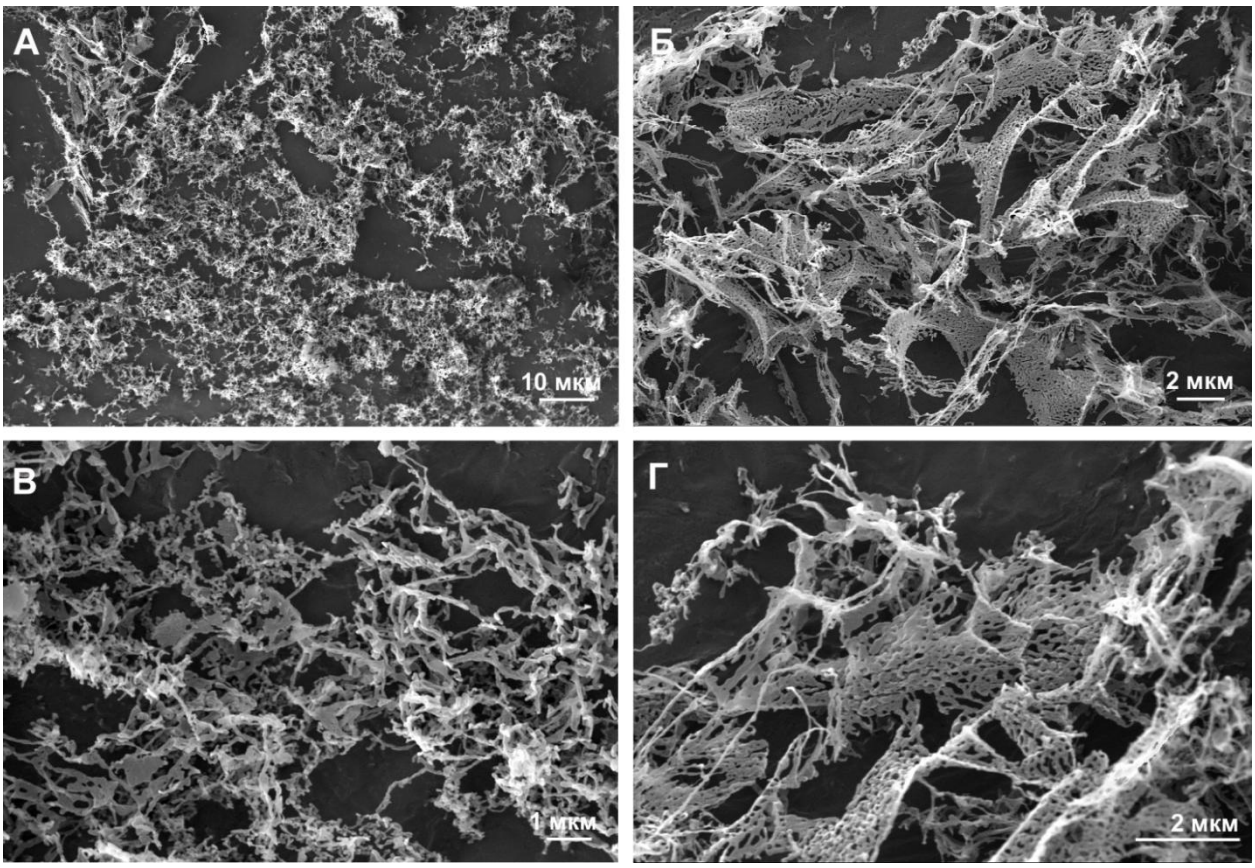

Рис. 35. Снимки СЭМ фрагментов агломератов композиции будесонид-глицин

3.2.5. Определение респирабельной фракции

Исследование аэродинамических характеристик композиции сальбутамол (2 масс.%)-глицин *in vitro* с использованием каскадного импактора Андерсена показало (Рис. 36), что для данной композиции характерно высокое значение респирабельной фракции (59±2 %)[101]. Известные значения респирабельной фракции для уже имеющихся на рынке и находящихся в процессе создания порошков для ингаляций существенно ниже. Респирабельная фракция смеси наноразмерных частиц сальбутамола с грубодисперсной лактозой составила 45 ± 5 %, а смеси микрочастиц сальбутамола с лактозой 31±3 % [102].

Доля мелких частиц в образце будесонида, полученного в данной работе, составила 51.2 % (респирабельная фракция), это значение существенно выше, чем доля мелких частиц (20 масс.%) препаратов на основе будесонида, зарегистрированных в РФ [103].

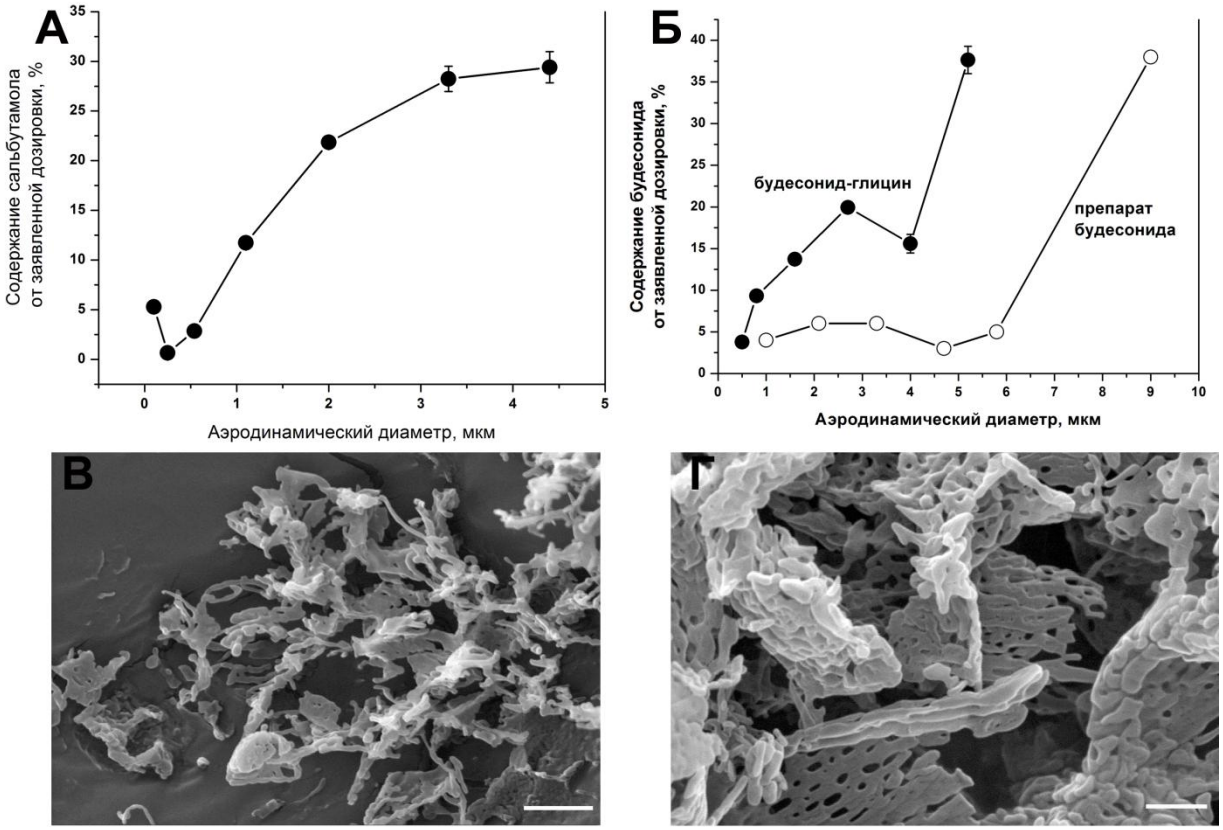

Рис. 2. Профили аэродинамического распределения частиц, А – образец сальбутамол (2 масс.%)-глицин, Б – образец будесонид-глицин, в сравнении с порошковым препаратом будесонида, изученного в [103], микрофотографии фрагментов пористых агломератов сальбутамол (2 масс%)-глицин (В, Г). Масштабный отрезок: В – 1 мкм; Г – 600 нм.

Полученным фармацевтическим композициям присущи все достоинства крупных пористых частиц на основе полимеров, получаемых методом распылительной сушки [102, 104, 105] например, меньшая склонность к агломерации при хранении по сравнению с микронизированными субстанциями, применяемыми в ингаляционной терапии. С другой стороны, – вследствие того, что данные агломераты получаются принципиально другим методом («предшественники» данных объектов образуются при вытеснении аморфной фазы составляющих композицию компонентов в пространство между множеством растущих кристаллитов микронного размера клатратного гидрата и льда Ih), для них характерна пористая структура и низкие величины насыпной плотности (менее 0,03 г/см^3). Необходимо отметить, что аэродинамический диаметр частиц завысит от плотности согласно формуле dаэр $= d * \sqrt{p}$, где d-геометрический радиус в мкм, а p – приведенная к единичной плотность, взятая в г/см^3. Например, пористые частицы с геометрическим диаметром 8.5 мкм и плотностью в 0.1 г/см^3 будут иметь примерно тот же аэродинамический диаметр (около 2.7 мкм) как не пористая частица с геометрическим диаметром 3.5 мкм и плотностью 0.8 г/см^3 (Рис. 37).

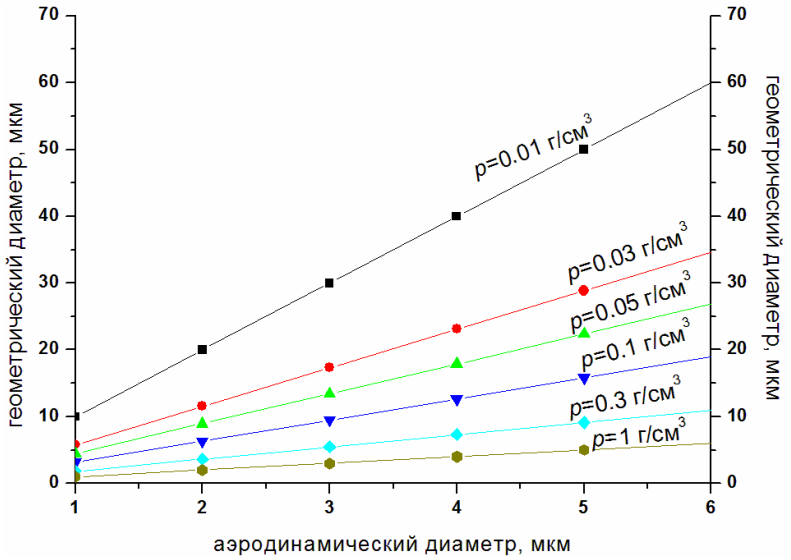

Рис. 37. Иллюстрация зависимости $\boldsymbol{d}$аэр $= \boldsymbol{d} * \sqrt{\boldsymbol{p}}$, при различной плотности частиц.

При касании конкретным сферическим агломератом влажной поверхности происходит прилипание только непосредственно контактирующих с поверхностью фрагментов, что не препятствует дальнейшему движению агломерата. Данную картину мы неоднократно наблюдали при приготовлении образцов для исследования с использованием сканирующей электронной микроскопии (Рис. 36). Кроме того, значительное отличие величин объемной плотности микронизированной субстанции и фрагментов, образовавшихся при разрушении агломератов, также объясняют значительное снижение потерь лекарственного вещества при аэрозолизации. Более того, известно, что величина респирабельной фракции сильно зависит также и от типа используемого устройства, поэтому использование ингаляторов более совершенной конструкции [например, описанных в 106, 107, 108] позволит еще больше увеличить респирабельную фракцию данной композиции.

3.2.6. Изучение фазового перехода

С целью оценки стабильности полученных композиций были проведены эксперименты по определению температуры фазового перехода β-глицин → α-глицин полученных образцов высокодисперсного β-глицина, а также композиции «сальбутамол-глицин» для использования в капсульных порошковых ингаляторах (2 масс.% сальбутамола). Фазовый переход β-глицин → α-глицин ранее изучался методами ДСК [99] и монокристального РСА [109]. Согласно результатам экспериментов ДСК, температура начала трансформации β-глицин → α-глицин составляет 340 K, однако заканчивается только при 415 K. Кроме того, сравнительно недавно [110] был исследован эффект влияния размера частиц на температуру фазового превращения между низкотемпературной и высокотемпературной полиморфными

модификациями DL-цистеина. Было показано, что высокодисперсные образцы низкотемпературной полиморфной модификации DL-цистеина, полученные сублимационной сушкой, более устойчивы при нагревании относительно перехода в высокотемпературную полиморфную модификацияю DL-цистеина, по сравнению с крупными кристаллами низкотемпературной полиморфной модификации DL-цистеина. Авторами работы [110] был сделан вывод, что получение метастабильных полиморфных модификаций в высокодисперсной форме может препятствовать переходу в стабильные полиморфные модификации вследствие кинетических затруднений.

Дифракционные исследования определения температуры трансформации *β*-глицин → α-глицин *in situ* проводили в температурном интервале от +30 до +230°С при пониженном давлении (статический вакуум, 2-4 торр). Для образца высокодисперсного *β*-глицина на порошковых дифрактограммах (Рис. 38, *a*), записанных в температурном интервале 25 ÷ 150°С, присутсвуют только рефлексы *β*-глицина. Появление рефлексов, отвечающих α-глицину, было отмечено на дифрактограмме, записанной при 175°С. Порошковая дифрактограмма, записанная при 200°С, содержала рефлексы, отвечающие только α-глицину. При дальнейшем повышении температуры (225°С) наблюдалось удаление глицина сублимацией из кюветы дифрактометра. В случае образца фармацевтической композиции сальбутамол(2 масс. %)-глицин (Рис 38, *b*), появление слабых рефлексов, соответствующих α-глицину, наблюдалось только при продолжительном выдерживании при 200°С. На дифрактограмме, записанной при 225°С, относительная интенсивность рефлексов α-глицина была сравнительно мала, а дальнейшее повышение температуры (250°С) привело к удалению образца сублимацией. В случае образца будесонид(2 масс.%)-глицин появление рефлексов α-глицина наблюдается при 225°С

Таким образом, уменьшение размеров частиц образцов до плоских перфорированных листов размерами 1-10 мкм, толщиной менее 100 нм, смещает температуру начала фазового перехода до 175°С (окончание фазового перехода при 200°С) по сравнению с образцами *β*-глицина, представляющие собой «совокупность игольчатых кристаллов длиной около 1 мм диаметром 0,05 мм», который происходит в температурном интервале 67 ÷ 142°С [99]. При этом, добавление 2 масс. % сальбутамола (0,6 моль-%) эффективно препятствует фазовому переходу в стабильную полиморфную модификацию. Кроме того, данный результат может представлять интерес для фармацевтической промышленности в качестве способа получения лекарственных препаратов с длительным сроком хранения на основе метастабильных полиморфных модификаций ЛВ.

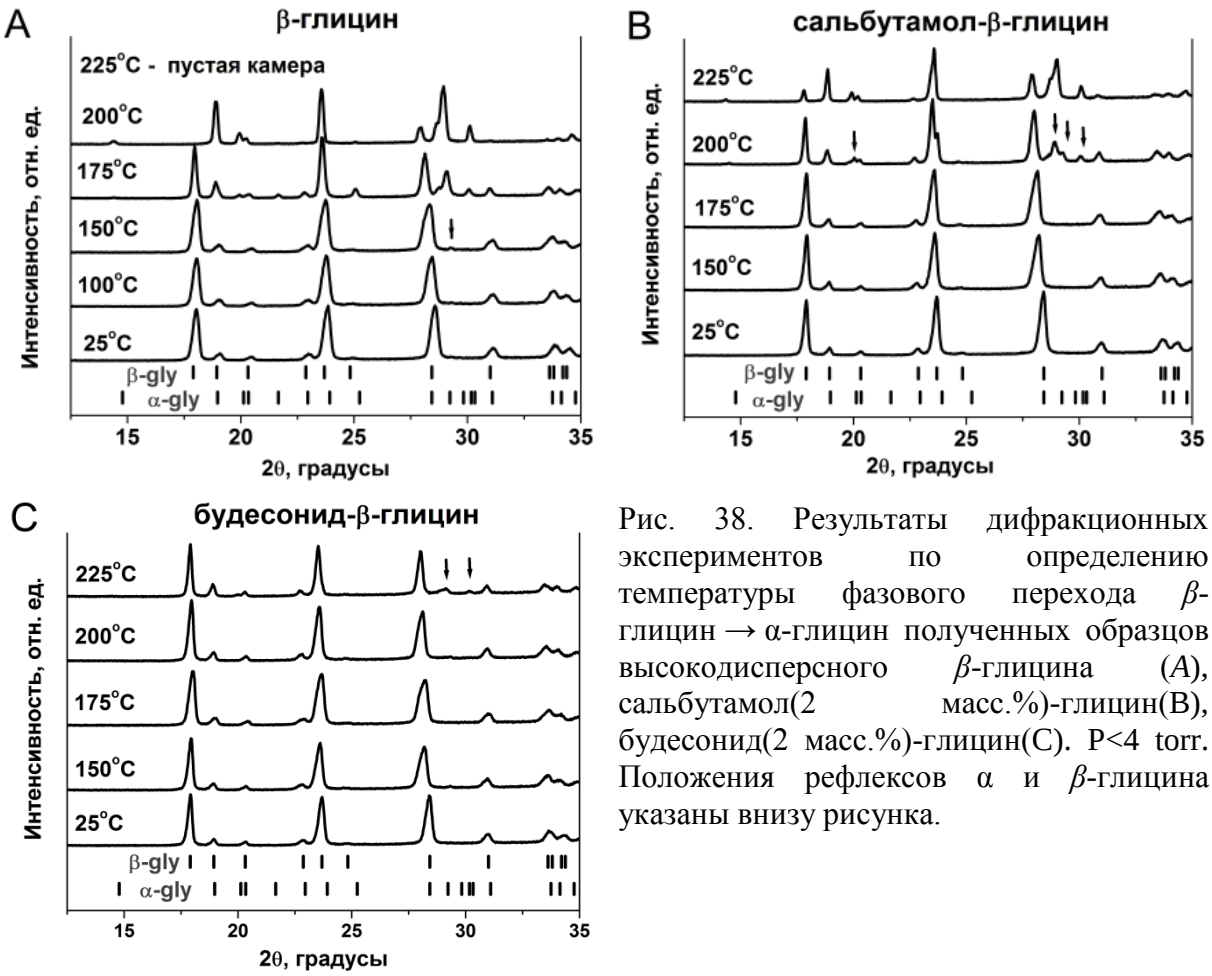

Рис. 38. Результаты дифракционных экспериментов по определению температуры фазового перехода *β*-глицин → α-глицин полученных образцов высокодисперсного *β*-глицина (*A*), сальбутамол(2 масс.%)-глицин(B), будесонид(2 масс.%)-глицин(C). P<4 torr. Положения рефлексов α и *β*-глицина указаны внизу рисунка.

Таким образом, получаемые по предложенному методу композиции обладают следующими свойствами [100]:

1. не происходит включение молекул АФИ в кристаллическую решетку вспомогательного вещества, т. е. образования истинного твердого раствора [111].

2. молекулы АФИ не образуют собственной кристаллической фазы и, вероятно, равномерно распределены между наноразмерными блоками вспомогательного вещества. Возможно, что условия, используемые для создания препарата, а также низкое содержание АФИ в композициях (1 молекула АФИ на 16 молекул *β*-глицина (т.е. 1 молекула ЛВ на 8 эл. Ячеек *β*-глицина) или 1 молекула АФИ на ~160 молекул *β*-глицина (т.е. 1 молекула ЛВ на 80 эл. Ячеек *β*-глицина)) препятствуют образованию АФИ собственной кристаллической фазы.

3. плохо растворимое лекарственное вещество равномерно распределено по всему объему носителя, что приведет к однородности каждой дозы порошка для вдыхания.

4. заданная морфология частиц, пористые сферические агломераты, приводит к: отсутствию агломерации частиц при хранении, высокой текучести и низкой насыпной

плотности, высоким значения респирабельной фракции более 50 % в случае будесонида и 59±2 % в случае сальбутамола.

5. Полученные композиции – **твердые дисперсные системы**, в которых между кристаллитами β-глицина находится аморфное ЛВ.

3.3. Приготовление готовых форм для вдыхания

Эксперименты по подбору условий приготовления готовых форм сальбутамола разбавлением поликристаллической субстанцией моногидрата лактозы (до 70 мкм.) для использования в порошковых ингаляторах показали, что даже при очень непродолжительном (15 сек.) механическом воздействии происходит разрушение пористых сферических агломератов исходной композиции до агломератов частиц с линейными размерами 1-2 мкм, толщиной ~ 200 нм (также имеющих «пористую» структуру, см. рис 39), которые «налипают» на кристаллы моногидрата лактозы. Было отмечено, что при механическом воздействии длительностью более 15 сек. происходит агломерация частиц конечного продукта; при этом, эксперименты по определению содержания сальбутамола в готовом продукте свидетельствуют, что уже при длительности воздействия 15 сек. достигается равномерное распределение композиции по всему объему носителя [98].

На рис. 39 представлено сравнение образцов приготовленной твердой формы для вдыхания на основе полученных высокодисперсных композиций сальбутамол(17 масс.%)-глицин (время воздействия 15 сек)(рис.39 *a-d*), разбавление одним из наиболее используемых в ингаляционной терапии носителем – моногидратом лактозы. Показано, что в процессе приготовления лекарственной формы происходит разрушение пористых сферических агломератов высокодисперсной композиции до отдельных агломератов частиц с наибольшим линейным размером <0.5 мкм. Очевидно преимущество как над склонной к агломерации микронизованной субстанции сальбутамола (*e*) так и физической смесью микронизованной субстанции сальбутамола с используемым носителем (*f*).

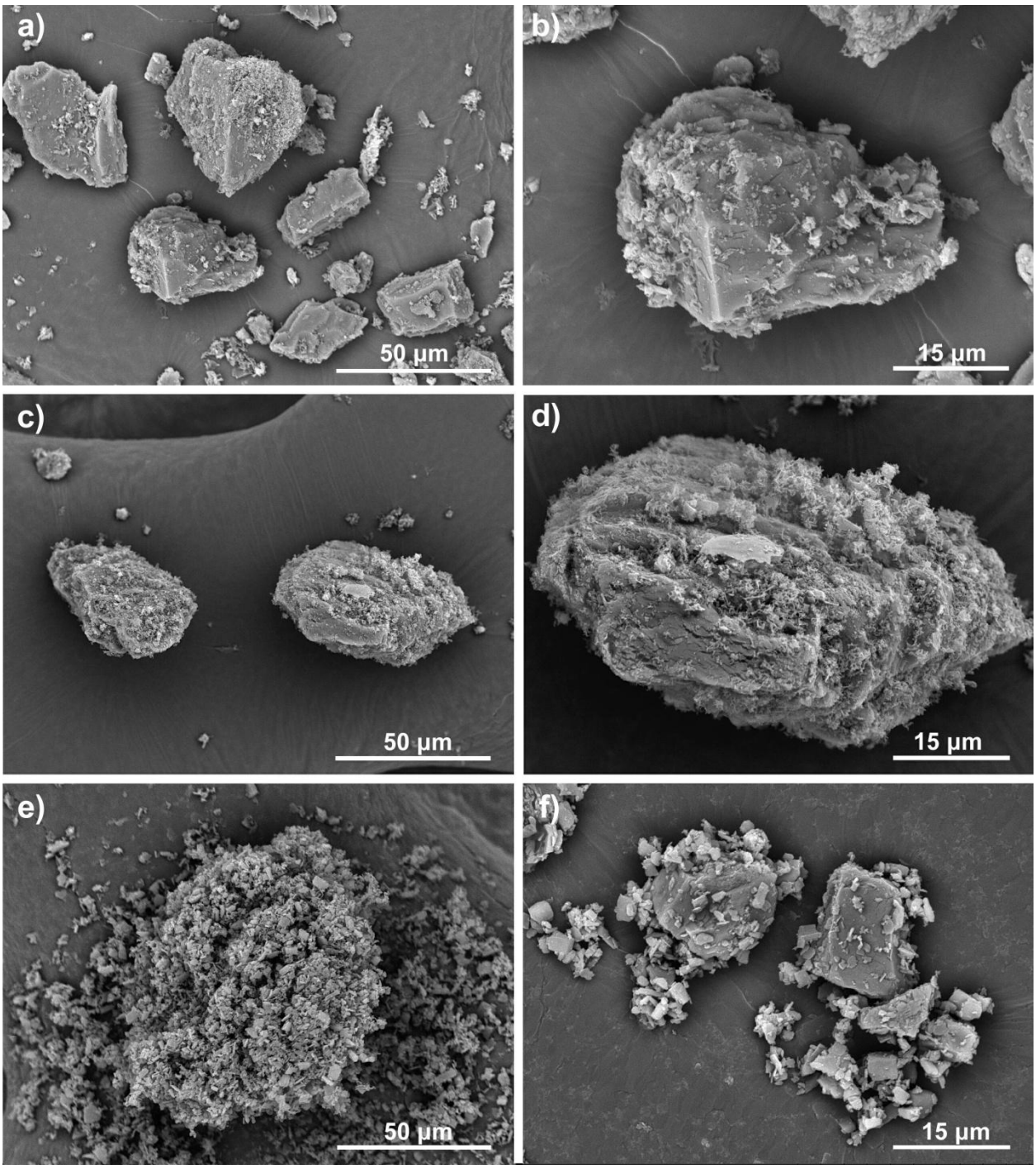

Рис. 39. Снимки СЭМ образцов: a, b, c, d - твердая форма для вдыхания на основе композиции сальбутамол (18 масс.%)-глицин и лактозы моногидрата(время воздействия 15 сек), e – микронизированная субстанция сальбутамола, f - физическая смесь микронизованного сальбутамола и лактозы моногидрата

Приготовление готовых форм для вдыхания с использованием композиций «сальбутамол-глицин» и «сальбутамол-лактоза» разбавлением соответствующими высокодисперсными носителями, полученными с использованием того же метода

Эксперименты по подбору условий приготовления готовых форм сальбутамола разбавлением соответствующими высокодисперсными носителями, полученными с

использованием того же метода для использования в порошковых ингаляторах показали, что при очень непродолжительном (15 сек.) механическом воздействии происходит разрушение пористых сферических агломератов как содержащей сальбутамол исходной композиции, так и композиций используемых для разбавления высокодисперсных носителей (размер сферических агломератов до 70 мкм.) до осколков сферических агломератов с максимальным размером в одном измерении до 20 мкм., также имеющих пористую структуру (рис. 40). При этом, не происходит существенного уменьшения насыпной плотности получаемых композиций.

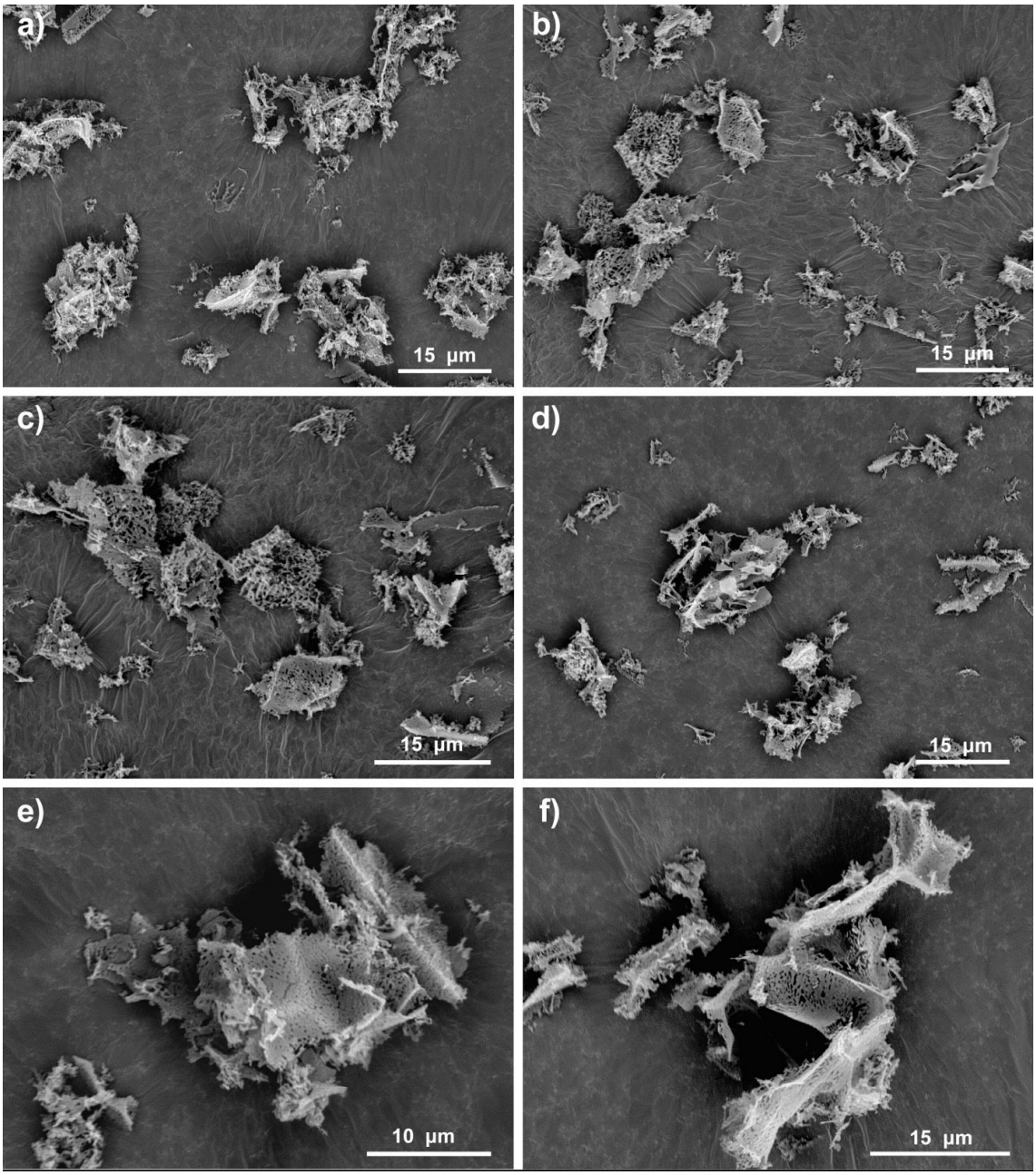

Рис. 40. Снимки СЭМ твердая форма для вдыхания на основе композиции сальбутамол (18 масс.%)-глицин и высокодисперсного глицина(время воздействия 15 сек)

3.4. Разработка метода получения фармацевтических композиций сальбутамол-дипропионат беклометазона-глицин

Дипропионат беклометазона не растворим в растворах ТГФ-вода в подходящем для сублимационной сушки диапазоне концентраций. Дипропионат беклометазона и сальбутамол совместно растворимы в растворах этиловый спирт-вода, поэтому были проведены дифракционные исследования данной системы.

3.4.1. Исследование системы этиловый спирт-вода

Самой перспективной системой органический растворитель - вода с точки зрения токсичности является растворы этиловый спирт-вода. Известно, что в системе существует несколько клатратных гидратов. Так в работе [79] методом ДТА построена фазовая диаграмма при 1 атм, автор отмечает образование 1 стабильного гидрата с содержанием спирта 55 масс. % и 2 метастабильных с содержанием воды 35 и 45 масс.%. Все они плавятся инконгруентно, 3 перетектики отмечены в диапазоне от -75 до -60°С, а эвтектика наблюдается около -124°С. Отт и соавторы [77] в своих исследованиях данной системы отмечают эвтектику при -122°С, метастибильную эвтектику при -124°С и перетектику при -53°С, с ингонгруентно плавящимся соединением с содержанием спирта около 35 масс. % (рис. 11).

Для изучения фазовых превращений, происходящих при отжиге замороженных растворов этиловый спирт – вода мы использовали синхротронное излучение. При содержании этилового спирта от 10 до 35 масс. % на дифрактограмах наблюдается рефлексы, отвечающие 2 фазам: клатратного гидрата КС I и льда I*h* (рис. 41). После быстрого охлаждения растворов в системе присутствует гидрат и лед, а при дальнейшем нагревании фаза гидрата исчезает и существенно увеличивается интенсивность рефлексов льда. Причем чем больше содержание спирта, тем при более низкой температуре в системе остается только лед. Так в случае 10 масс. % замороженного раствора этилового спирта в воде лед становится единственной кристаллической фазой в системе при -30°С, а в случае 35 масс. % - при -59°С.

При содержании этилового спирта в быстро замороженных смесях от 40 до 60 масс. % на дифрактограммах присутствуют рефлексы, относящиеся к фазам: гидрат КС I, гидрат КС II и лед Ih (рис. 41, рис. 42). Стоит отметить, что на дифракционных картинах замороженных растворов с содержанием спирта более 60 масс. % очень сложно идентифицировать рефлексы, так как мы наблюдаем картину присущую рентгеноаморфным веществам. Поэтому дифрактограммы для этих смесей не представлены. После быстрого охлаждения растворов с содержанием спирта от 40 до 60 масс. % в системе происходит образование фазы гидрата КС I. По мере нагревания ячейки с образцом до -90°С в исследуемых образцах появляется фаза КС II,

которая затем исчезает вместе с фазой КС I примерно при -60°С и остается фаза льда I*h*. Стоит отметить, что на представленных дифрактограммах образцов с содержанием этилового спирта от 40 масс. % уже при температуре жидкого азота происходит поднятие базовой линии, что говорит о присутствии аморфной составляющей.

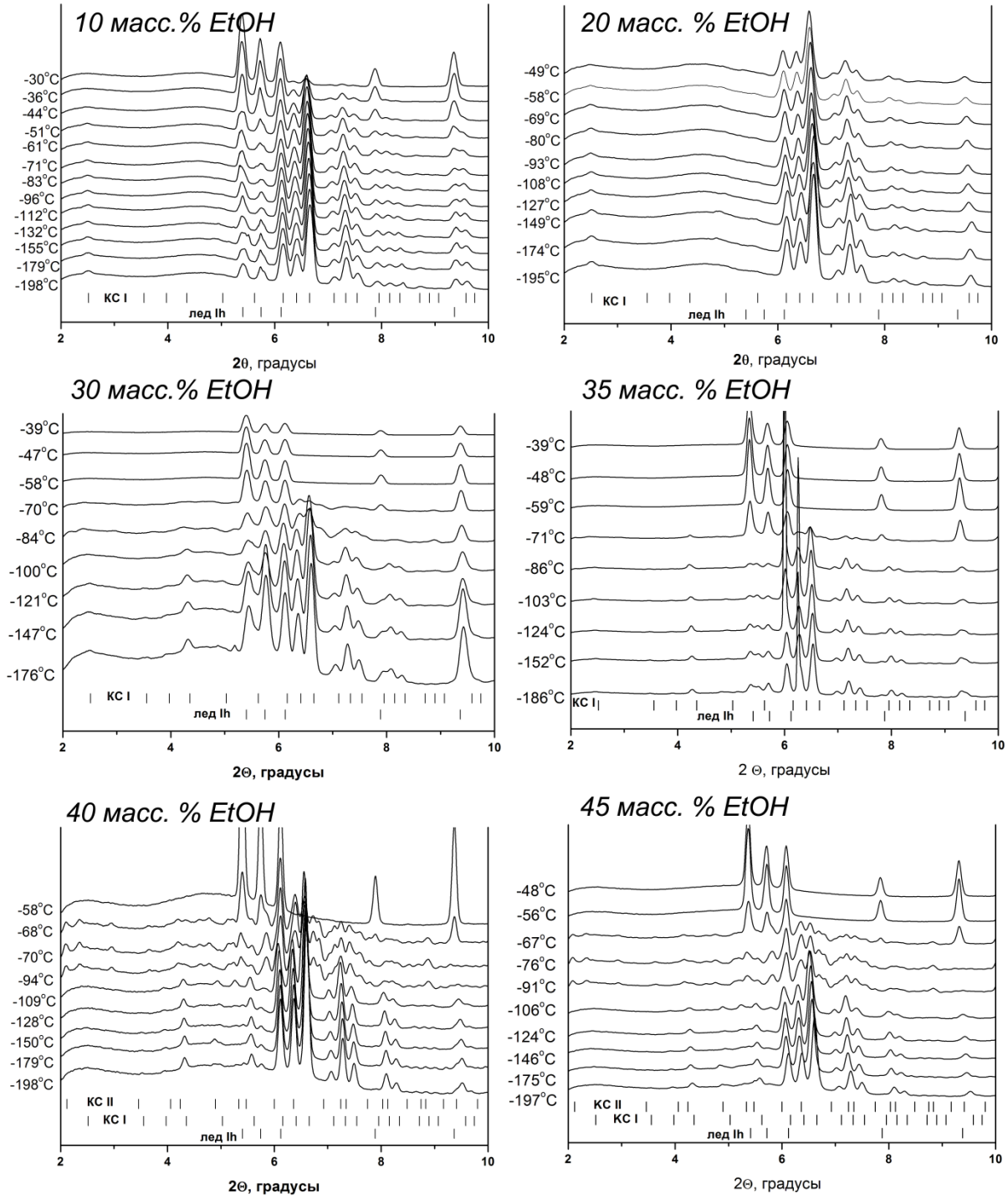

Рис. 41. Дифрактограммы быстро замороженных растворов этиловый спирт-вода при различных температурах.

Дифракционные исследования быстрозамороженных ($W_{охл}$~10^4 градус/с) растворов этиловый спирт-вода показали, что в данной системе происходит образование нескольких ранее описанных в [91] гидратов, которые плавятся инконгруентно, что не допустимо для сублимационной сушки.

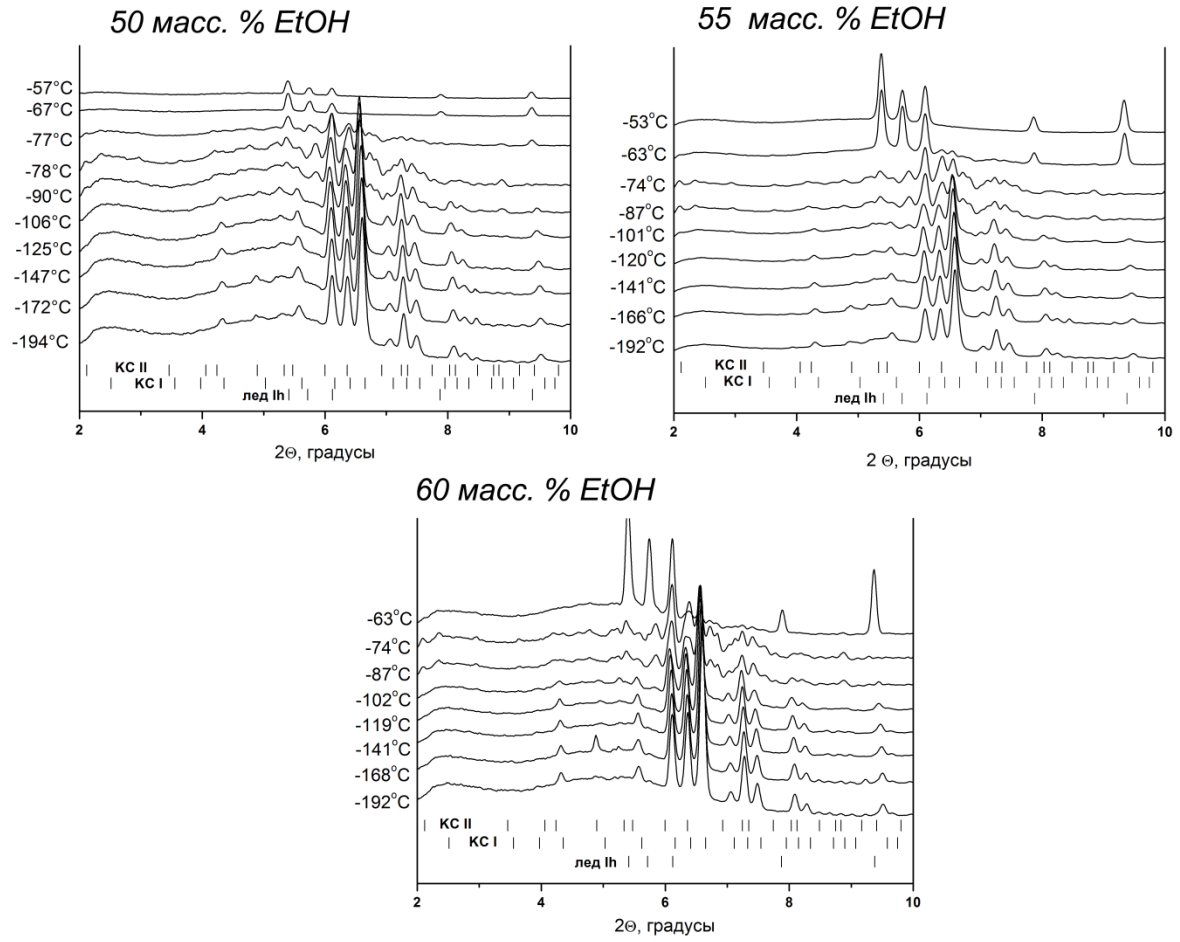

Рис. 42. Дифрактограммы быстро замороженных растворов этиловый спирт-вода при различных температурах.

В данной работе были проведены дифракционные исследования «оттоженных» (см. экспериментальную часть) образцов замороженных растворов этиловый спирт-вода с использованием лабораторного дифрактометра Bruker D8 Advance. На дифрактограммах этих образцов отчетливо видно наличие рефлексов, относящихся только к 2 фазам: клатратного гидрата КС-I и льда I*h* (рис. 43). При содержании спирта 10 масс. % на порошкограмме от -125° до -70°С сосуществует лед и гидрат, так же как и в случае быстро охлажденного образца интенсивность рефлексов гидрата при увеличении температуры уменьшается, а льда – увеличивается. При -50°С остается только лед. При содержании спирта 20 масс. % с

уверенностью можно утверждать, что при -125°С и -110°С исследуемый образец содержит только гидрат КС-I (содержание этилового спирта в гидрате КС-I, согласно [80],составляет 23 масс. %). Далее все происходит аналогично предыдущему случаю и происходящие явления сходны с результатами исследований, полученных на быстро замороженных образцах. На порошкограммах образцов с содержанием спирта 40 и 50 масс. % наблюдается небольшое поднятие базовой линии как при низких, так и при высоких температурах, что говорит о присутствии в образцах стеклообразных фаз. Явным отличием «оттоженных» образцов от быстро охлажденных является отсутствие в первом случае рефлексов фазы КС II.

Подобное отличие можно объяснить следующим образом. При быстром охлаждении растворов не все молекулы этилового спирта «успевают» встать на свои места, а именно в полость клатратного каркаса и встроиться в каркас. При повышении температуры молекулы начинают «двигаться», то есть встраиваться в каркас, образуется гидрат с большим мольным содержанием гостя. В случае «оттоженных» образцов все изменения уже произошли.

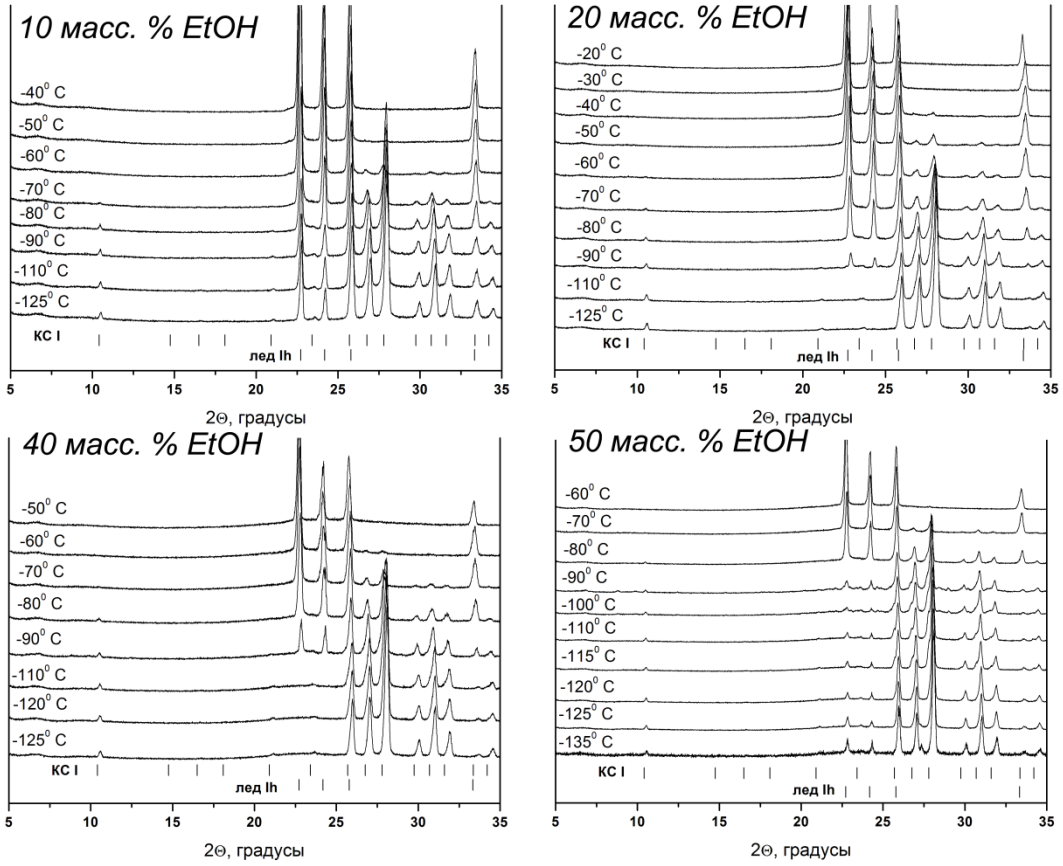

Рис. 43. Дифрактограммы «оттоженных» замороженных растворов этиловый спирт-вода при различных температурах

На основании полученных данных можно сказать, что использование системы этиловый спирт-вода в качестве растворителя для сублимационной сушки затруднено необходимостью

длительного выдерживания образцов для установления равновесия в системе. Так как в системе после охлаждения происходит образование метастабильного гидрата (КС II), что в свою очередь может приводить к неконтролируемому нарушению условий сушки, а именно появлению жидкости. Кроме того, образование метастабильной жидкости при нагревании образующихся при быстром замораживании растворов этиловый спирт-вода стеклообразных фаз делает проведение сублимационной сушки практически невозможным, вследствие, значительно более медленного удаления жидкости (испарением) из высоковязкого жидкого «раствора».

Дипропионат беклометазона растворим в системе *трет*-бутиловый спирт-вода, но в ней не растворяется сальбутамол, поэтому в качестве растворителя для сублимационной сушки была выбрана тройная система ТГФ-*трет*-бутиловый спирт – вода. Литературных данных о фазовых превращениях и устойчивости фаз в системах низкоатомный спирт-тетрагидрофуран-вода не обнаружено, поэтому перед использованием данных систем для получения комбинированных фармацевтических композиций необходимо подробное изучение процессов происходящих при их отжиге.

3.4.2. Исследование системы *трет*-бутиловый спирт-вода

Трет-бутиловый спирт (ТБС) широко используется в фармацевтической промышленности при синтезе лекарственных субстанций, а также в качестве растворителя при лиофильной сушке. Фазовая диаграмма ТБС-вода была исследована несколькими научными группами [62, 77], и представлена на рис. 44. Данная диаграмма получена в условиях, приближенных к равновесным методом ДСК. Для изучения фазовых превращений, происходящих при отжиге быстрозамороженных растворов мы провели дифракционные исследования, так как по данным ДСК в системе при содержании ТБС 50 масс. % наблюдается метастабильная эвтектика при -10°С. В работе [77] показано наличие в системе инконгруентно плавящегося соединения.

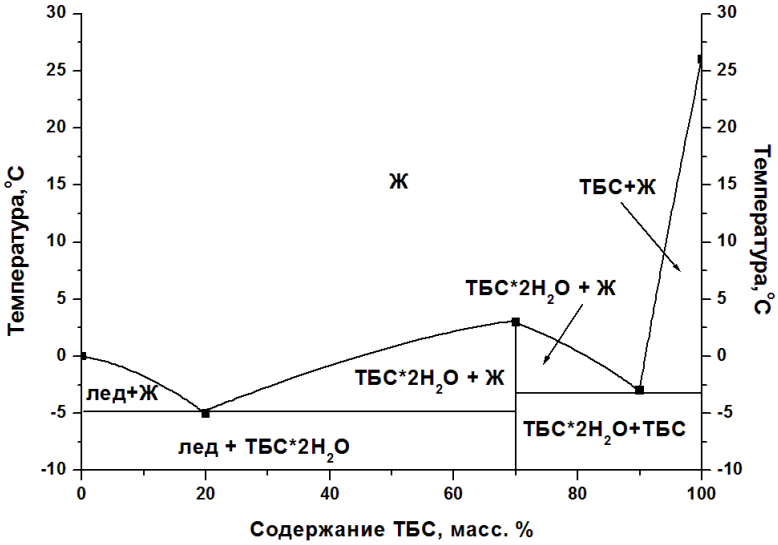

Рис. 44. Фазовая диаграмма системы ТБС-Н2О, согласно данным [62].

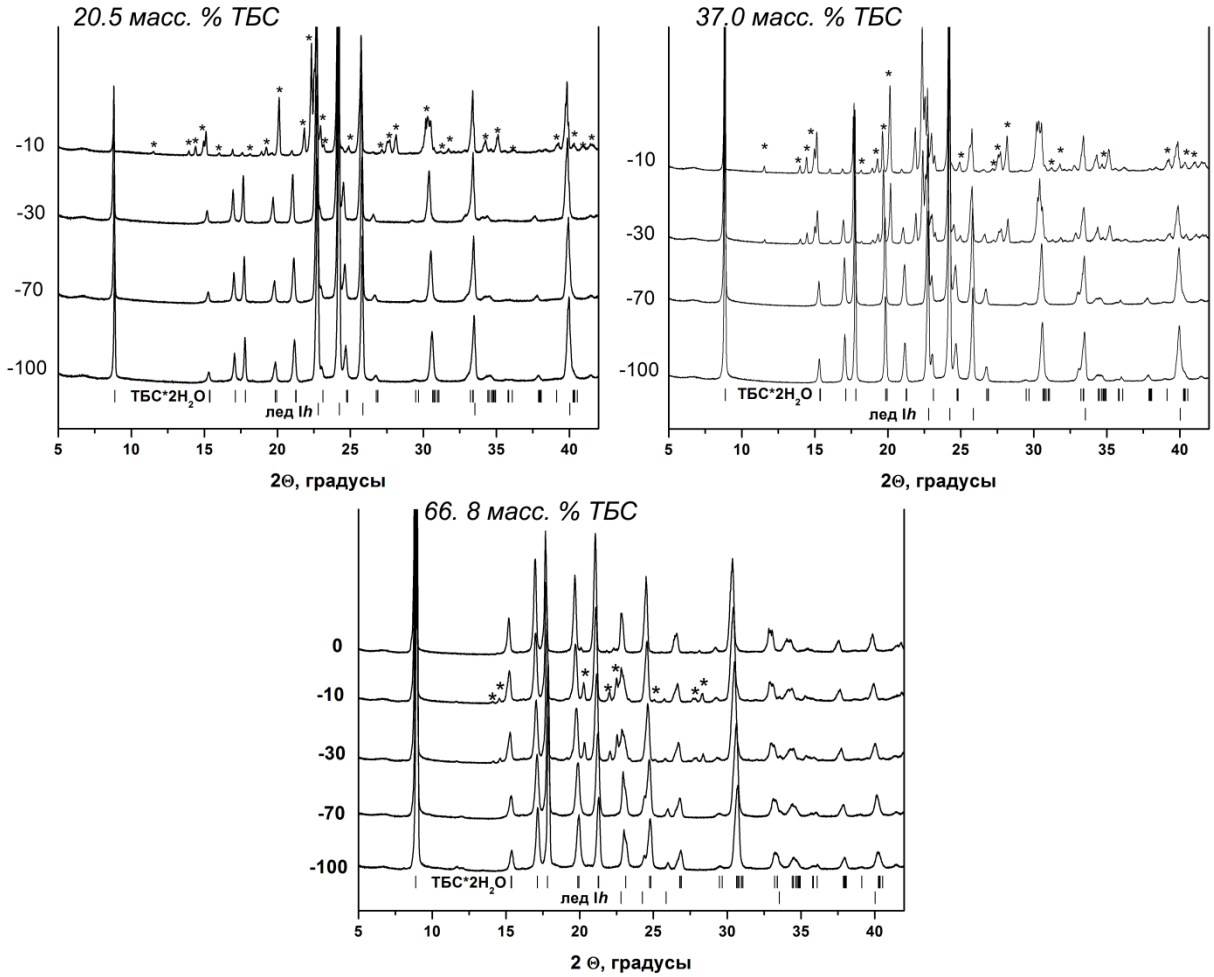

Рис. 45. Дифрактограммы быстро замороженных растворов ТБС-вода с различным содержанием ТБС при различных температурах (атмосферное давление). Рефлексы, относящиеся к дигидрату ТБС и льду I*h*, приведены внизу;* - обозначены наиболее сильные рефлексы фазы ТБС·7H_2O. Слева у каждой серии указана температура в °С.

В растворах с содержанием ТБС 20.5 масс. % (содержание спирта приближено к составу гипотетического клатратного гидрата ТБС·17H_2O) и 37.0 масс % (содержание спирта

приближено к составу метастабильного гидрата ТБС·7H_2O) при быстром охлаждении образуются фазы ТБС·2H_2O и гексогонального льда (-100° и -70°С), что соответствует фазовой диаграмме (рис. 45). При последующем нагреве происходит появление рефлексов метастабильного гидрата ТБС·7H_2O, а также небольшое падение интенсивности рефлексов гексогонального льда и ТБС·2H_2O. В случае замороженных растворов с содержанием ТБС 66.8 масс. % (содержание спирта приближено к составу ТБС·2H_2O) при температурах -100° и -70°С в системе присутствует 2 фазы: ТБС·2H_2O и лед. Рефлексы льда гораздо меньшей интенсивности, чем при меньшем содержании спирта, возможно, это лед, образующийся из влаги атмосферы. При последующем нагревании системы на дифрактограммах наблюдаются рефлексы фазы ТБС·7H_2O (-30°, -10°С). Таким образам по данным порошковой дифрактометрии при низких температурах фазовый состав замороженных растворов ТБС-H_2O соответствует равновесному, а при более высоких температурах происходит образование метастабильного ингонкурентно плавящегося гидрата ТБС·7H_2O.

3.4.3. Моделирование фазовых превращений в трехкомпонентной системе ТГФ-ТБС-вода

Клатратный гидрат, образующийся в системе ТГФ-вода, обладает наибольшей термической устойчивостью среди всех известных к настоящему времени гидратов кубической структуры II, образуемых легкокипящими жидкостями [69] вследствие наилучшей комплементарности размеров молекулы ТГФ большой полости каркаса КС-II. Поэтому можно ожидать, что в тройной системе ТГФ-ТБС-вода будет образовываться смешанный клатратный гидрат КС II, в котором часть больших полостей будет занята молекулами ТГФ, а часть – ТБС. Причем возможно как образование соединения постоянного состава, с определенным мольным соотношением ТГФ и ТБС, а возможно образование твердого раствора. Еще более сложная система возникает, если молекулы ТБС будут встраиваться в водный каркас. С целью минимизации числа экспериментальных точек, необходимых для построения тройной фазовой диаграммы ТГФ-ТБС-вода, было проведено следующее моделирование. Для начала было предположено, что в системе не образуются тройные соединения.

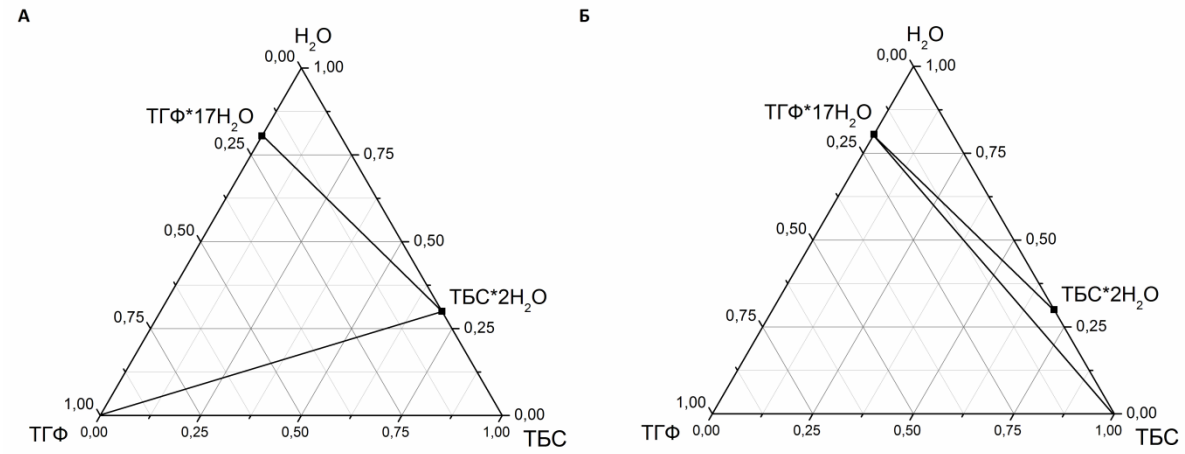

Рис. 46. Триангуляции в системе с 2 бинарными соединениями без образования тройных соединений

Образование в системе нескольких двойных или тройных конгруентно плавящихся соединений постоянного состава позволяет разделить Т-x_1-x_2 проекцию системы на подсистемы методом триангуляций [37]. В нашем случае в двойных системах образуются конгруентно плавящиеся соединения ТГФ·17H_2O и ТБС·2H_2O. Для начало рассмотрим варианты триангуляции в системе без образования тройного соединения (рис. 46). Видно, что в обоих случаях в разбиениях треугольника Гиббса присутствует триангуляция с вершинами в точках H_2O, ТГФ·17H_2O и ТБС·2H_2O. Именно эта концентрационная область диаграммы интересна нам для получения новых лекарственных форм.

Рассмотрим элементарную подсистему эвтектического типа, которая представляет собой триангуляцию с вершинами в точках H_2O, ТГФ·17H_2O и ТБС·2H_2O. Сейчас и в дальнейшем мы будем стоить характеристическое политермическое сечение на отрезке, соединяющем ТГФ·17H_2O (19,6 масс. %; ТГФ) и гипотетический клатратный гидрат “ТБС·17H_2O” (19,4 масс. %; ТБС). Зная вид этого сечения, мы сможем определить и другие области на фазовой диаграмме без привлечения дополнительных экспериментов. Если точка тройной эвтектики (E) в треугольнике H_2O, ТГФ·17H_2O и ТБС·2H_2O на диаграмме плавкости лежит ниже характеристического сечения, то сечение будет пересекать кривую эвтектической кристаллизации (e_1E), что схематически приведено на рис. 47 А. Соответствующее этому характеристическое сечение приведено снизу (рис. 47 В)

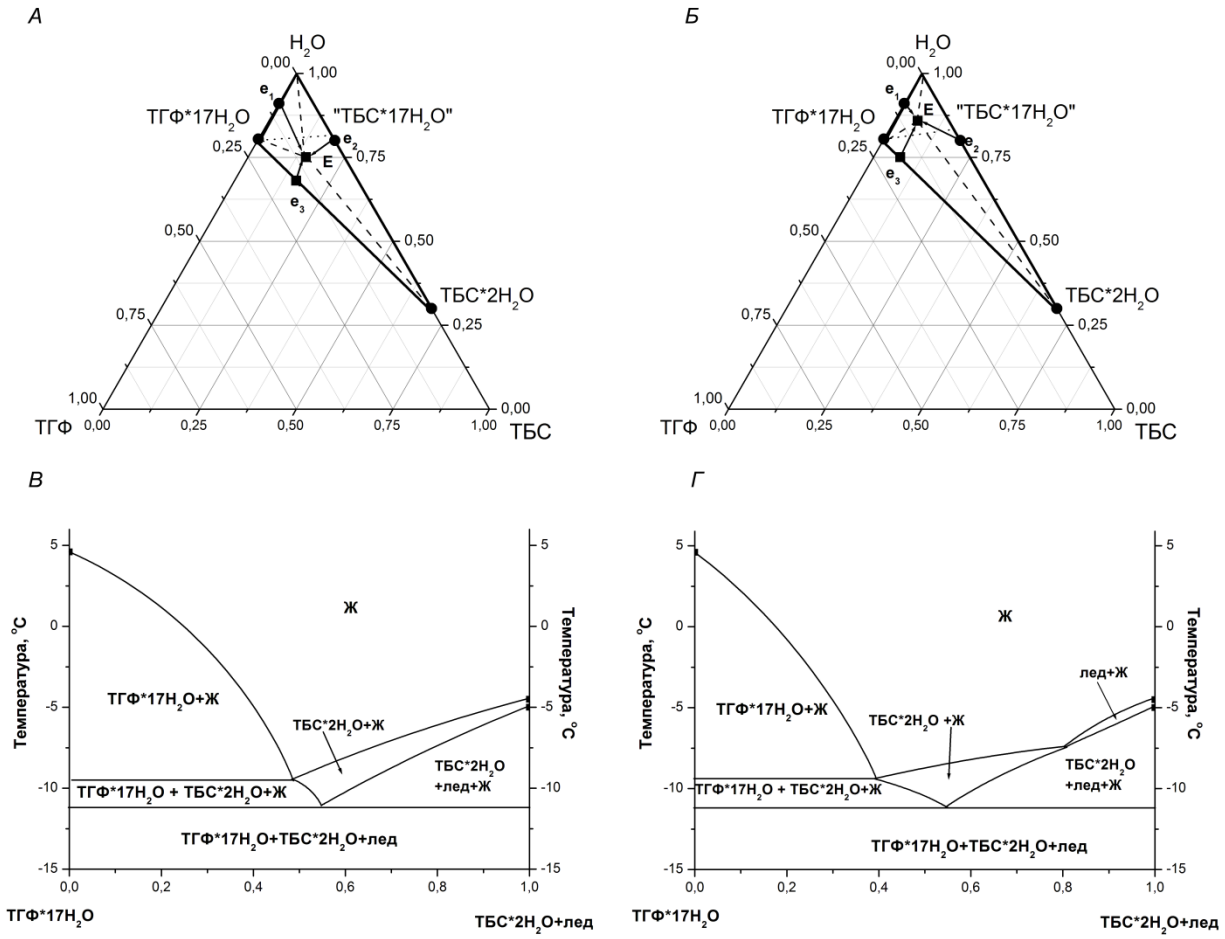

Рис. 47. Варианты участка диаграммы плавкости (А, Б). На рисунках А и Б кружками отмечены положения точек в двойных системах (ТГФ·17Н2О, е1, е2, ТБС·2Н2О), известных из литературных данных, квадратами – предполагаемые (е3, Е)

Если точка тройной эвтектики (Е) в треугольнике H_2O, ТГФ·17H_2O и ТБС·2H_2O на диаграмме плавкости лежит выше характеристического сечения, то сечение будет пересекать две кривые эвтектической кристаллизации (e_2E и e_3E), что схематически приведено на рис. 47 Б. Соответствующее этому характеристическое сечение приведено справа (рис. 47 Г). Характеристические сечение В и Г можно различить если провести фазовый анализ твердого остатка находящегося в равновесии с жидкостью при очень малом содержании ТГФ. То есть попасть в область ТБС·2H_2O+ж в случае В или попасть в область лед+ж в случае Г.

Следующий шаг это построение триангуляций в случае образования одного тройного соединения постоянного состава (Т) (рис. 48). Одним из условий данного предположения является то, что тройное соединение (Т) лежит на отрезке, соединяющем состав клатратного гидрата ТГФ·17H_2O (19,6 масс. % ТГФ) и гипотетический клатратный гидрат “ТБС·17H_2O” (19,4 масс. % ТБС) в соответствующих двойных системах. То есть часть больших полостей в клатратном гидрате занято молекулами ТГФ, а часть ТБС и соотношение ТГФ:ТБС не меняется, молекулы ТБС в водный каркас не встраиваются.

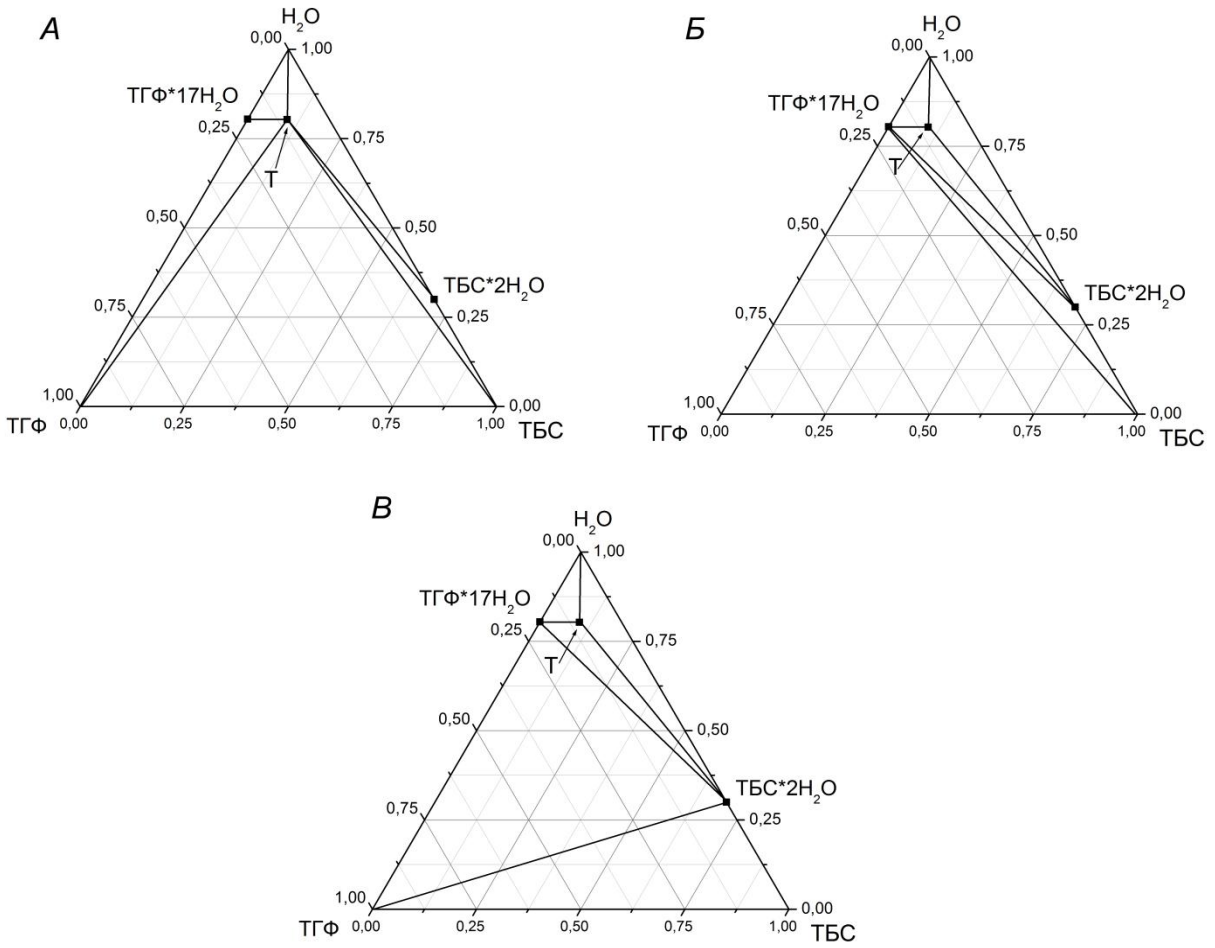

Рис. 48. Триангуляции в системе с 2 бинарными соединениями с образованием одного тройного соединения. Буквой Т на рисунках обозначено тройное соединение

В интересующей нас концентрационной области варианты триангуляций Б и В идентичны. Принципиальный вид характеристического сечения для всех вариантов триангуляций будет одинаков (рис. 49). Так как во всех вариантах (А,Б,В) присутствует треугольник с вершинами в точках Т, H_2O и ТБС·2H_2O.

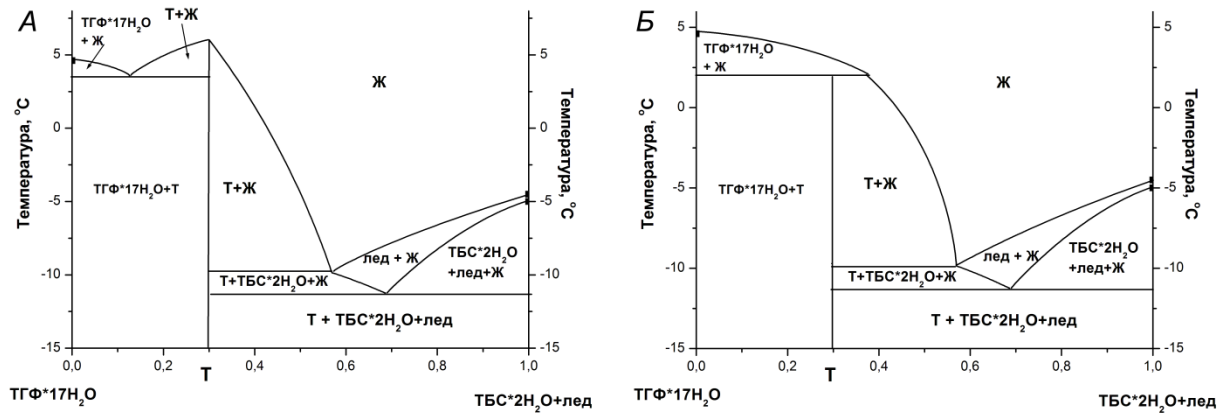

Рис. 49. Принципиальный вид характеристического политермического сечения. В случае конгруентного (А) и инконгруентного (Б) плавления тройного соединения. Буквой Т на рисунках обозначено тройное соединение

Возможно образование не стехиметрического соединения, а твердого раствора на основе КС II. То есть соотношения компонентов (ТГФ и ТБС) в клатратном гидрате будет меняться. В этом случае область существования гидрата переменного состава может быть различной (рис. 50), тогда рис 49А перейдет в рис 50 Б а в случае инконгруентного плавления твердого раствора на основе КС II рис. 50 Б перейдет в рис. 50 С.

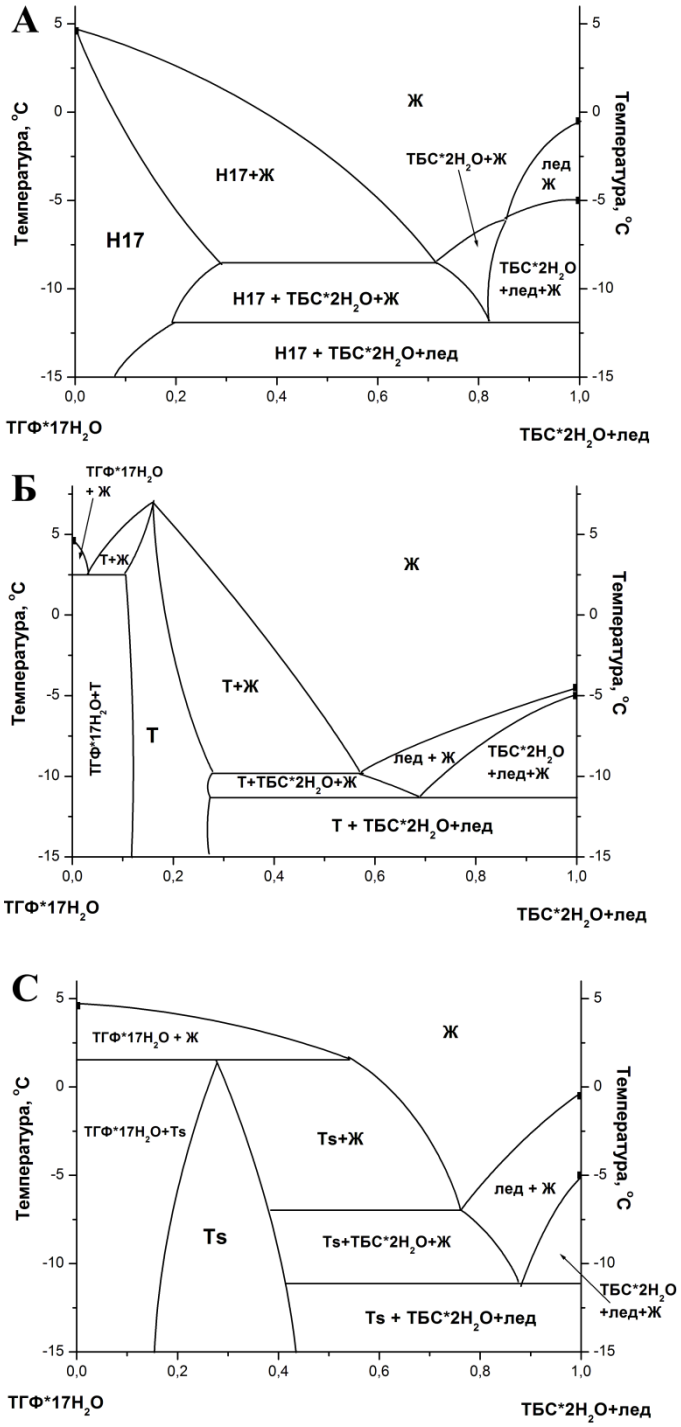

Рис. 50. Варианты принципиального вида характеристического политермического сечения в случае образования соединения переменного состава. Обозначения, приведенные на

рисунке: Н17 и Т обозначения смешанного гидрата

3.4.4. Исследование фазовых превращений в трехкомпонентной системе ТГФ-ТБС-вода

Порошковые дифрактограммы образцов с различным соотношением ТГФ и ТБС, записанные в температурном интервале от -100°С до 0°С, представлены на рис. 51**.** На порошковых дифрактограммах образцов «А» (15 масс.% ТГФ, 5 масс.% ТБС) и «Б»(10 масс.% ТГФ, 10 масс.% ТБС) при низких температурах (-100°С- -70°С) присутствуют только рефлексы, относящиеся к фазам гидрата КС-II и льда I*h*.При дальнейшем повышении температуры было отмечено появление рефлексов(очень слабой интенсивности), относящихся к фазе гидрата ТБС·2H_2O.На порошкограммах образца «В» (5 масс.% ТГФ, 15 масс.% ТБС) в температурном интервале от -100 и -70°С присутствуют рефлексы трех фаз: гидрата КС-II,льда I*h*, и гидрата ТБС·2H_2O. При дальнейшем повышении температуры на порошкограммах, записанных при -30°С и -10°С появляются рефлексы, отвечающие фазе образующегося в системе ТБС-вода метастабильногог гидрата ТБС·7H_2O. На порошкограммах всех образцов, записанных при 0°С, присутсвуют только рефлексы льда I*h* малой интенсивности и наблюдается поднятие базовой линии, что свидетельствует оналичии жидкости в кювете дифрактометра. Сравнение параметров элементарной ячейки гидрата КС-II, рассчитанных для всех образцов (рис.51 Г), показало, что с увеличением содержания ТБС в образцах замороженных растворов происходит увеличение параметра элементарной ячейки гидрата КС-II и изменение угла наклона кривой термического расширения (коэффициента термического расширения), на основании чего можно предположить, что фазы гидратов КС-II, полученные при охлаждении образцов «А» и «В», имеют различный состав.Таким образом, мы предполагаем, что происходит частичное замещение молекул ТГФ на молекулы ТБС в больших полостях гидрата КС-II, что приводит к увеличению параметра элементарной ячейки.

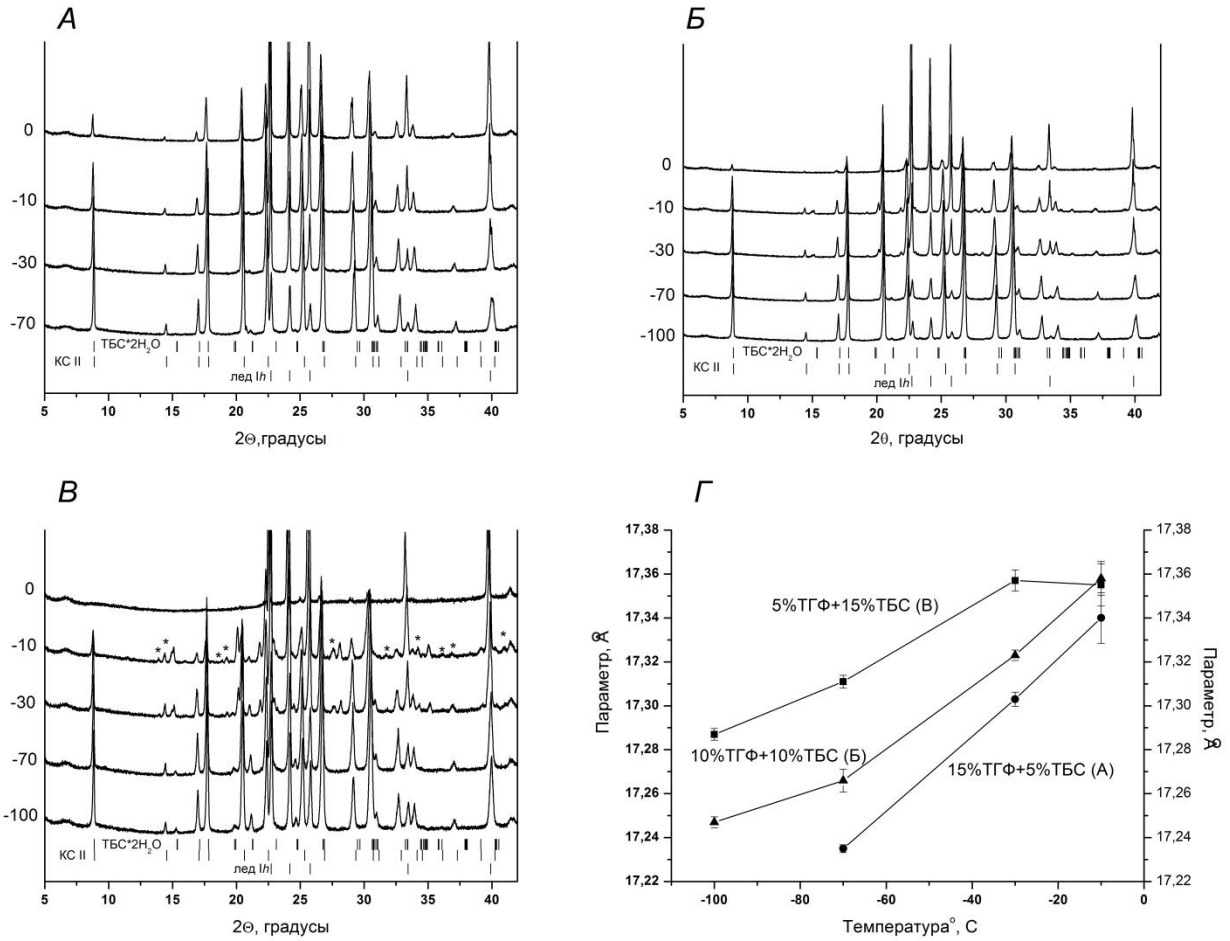

Рис. 51. Дифрактограммы замороженных растворов А – 15 масс.% ТГФ, 5 масс. % ТБС, Б – 10 масс.% ТГФ, 10 масс.% ТБС, В – 5 масс. % ТГФ, 15 масс.% ТБС при различных температурах и атмосферном давлении (температура в °С указана слева от рисунков), Г – сравнение параметров ячейки КС II для каждого из составов при различных температурах.

Для подтверждения гипотезы об образовании смешанного клатратного гидрата в изучаемой системе были проведены исследования КР спектроскопии (рис. 52). Для детального рассмотрения выбрана область колебаний 730-780 см$^{-1}$, так как в этой области не наблюдается колебаний молекулы ТГФ и присутствуют внутримолекулярные колебания ТБС **О-Н** 752 см$^{-1}$(рис 52 Е). В случае замороженного раствора 20 масс. % ТБС в воде наблюдается смешение колебательной моды в длинноволновую область (761 см$^{-1}$), что свидетельствует об образовании водородной связи ОН группы спирта и молекулы воды в структуре ТБС·2H_2O. В случае смешанных растворов ТГФ-ТБС-H_2O смешение колебания **О-Н** происходит в коротковолновую область (747 см$^{-1}$), что говорит об изменении окружения молекулы ТБС в исследуемых образцах. Это явление подтверждает гипотезу об образовании смешанного клатратного гидрата. Стоит отметить, что на спектрах В и Г (содержание ТБС в смеси 10 и 15 масс.%) наблюдается небольшое поднятие базовой линии в районе 761 см$^{-1}$. Это свидетельствует о присутствии в

образцах молекул ТБС, которые связаны водородной связью с молекулами воды, то есть фазы ТБС·$2H_2O$, что и наблюдается на порошковых дифрактограммах. Таким образом, данные спектроскопии КР подтверждают данные полученные с помощью метода порошковой рентгеновской дифракции. Образование уже на стадии охлаждения исходного раствора соединения переменного состава - ***двойного клатратного гидрата***, связывающего при этом все компоненты раствора (вода и легкокипящие органические растворители), стабильность которого (следовательно, и предельную температуру сушки) можно будет варьировать концентрацией компонента, стабилизирующего каркас клатратного гидрата, сделает возможным создание высокоэффективных лекарственных форм нового поколения с использованием метода сублимационной сушки замороженных растворов в системах с клатратообразованием.

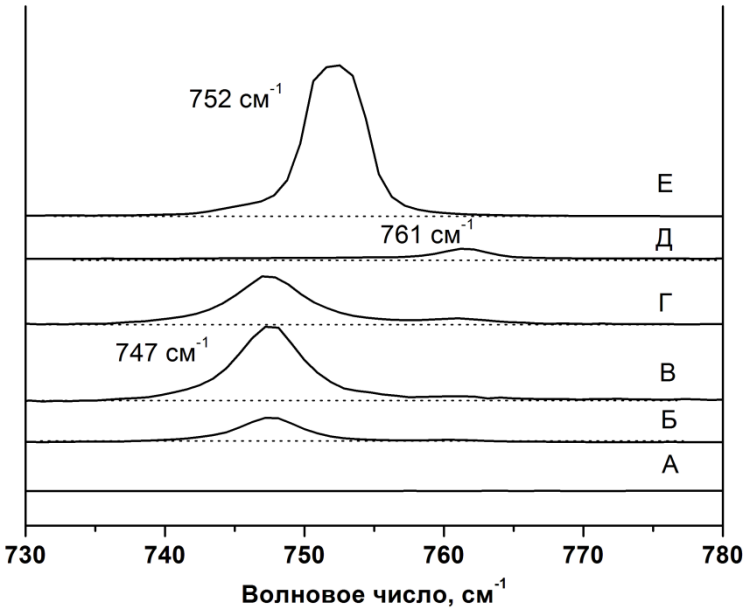

Рис. 52. Спектры КР замороженных растворов при -196°С в области 730-780 $см^{-1}$. А – 20.4 масс. % ТГФ в воде, Б – 15 масс. % ТГФ и 5 масс. % ТБС в воде, В – 10 масс.% ТГФ и 10 масс. % ТБС в воде, Г - 5 масс.% ТГФ и 15 масс. % ТБС в воде, Д – 20 масс.% ТБС в воде, Е – ТБС.

Определение температур фазовых переходов для построения характеристического политермического сечения (рис.53) и определения предельной температуры первой стадии сушки, использовали метод дифференциально-термического анализа (ДТА). Результаты данных ДТА представлены на рис 53, на нем обозначены температуры эффектов и их расположение на отрезке составов с 80 масс.% воды. На основании полученных данных РФА, КР спектросокии и ДТА был выбран вариант политермического сечения фазовой диаграммы ТГФ-ТБС-вода, который представляет образование в системе твердого раствора на базе инконгруентно плавящегося тройного соединения - двойного клатратного гидрата КС II (рис. 50 С).

Температура плавления тройной эвтектики была нами определена и составляет -12,4°С (самая нижняя группа точек на рис. 53)

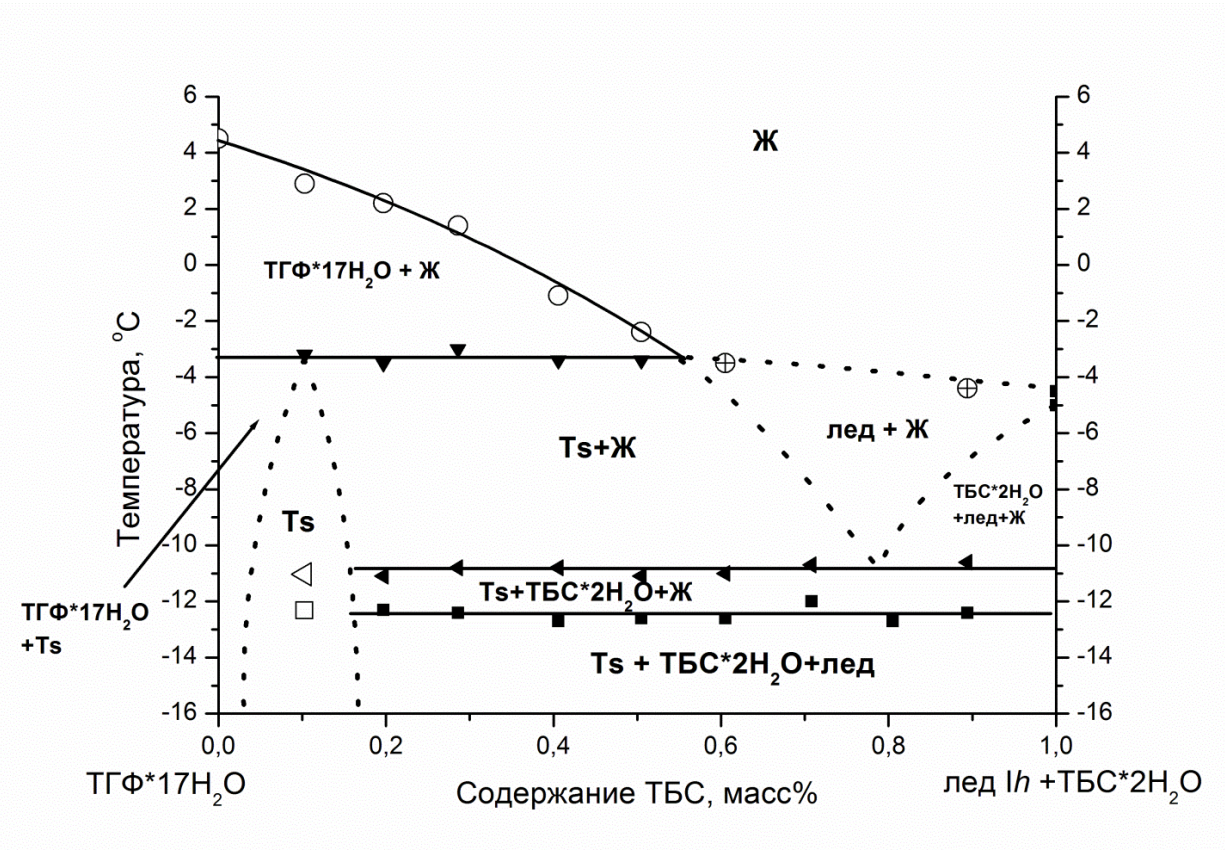

Рис. 53. Данные ДТА экспериментов, значками обозначены термоэффекты и политермическое сечение.

3.4.5. Определение температуры основной стадии сушки при использовании растворов ТГФ-ТБС-вода

Температура плавления тройной эвтектики в системе *ТГФ-ТБС-вода*, определенная в данной работе составляет -12,4°С, которая, таким образом, является критической температурой первой стадии сушки. Однако, принимая во внимание допустимую погрешность (±2,5°С) обычно используемых в технике для измерения температур в указанном интервале некалиброванных термопар (хромель-копель, хромель-алюмель; класс точности 2 и 3), мы будем использовать температуру **-15°С** для первой стадии сушки

3.4.6. Выбор концентрационного диапазона используемой смеси растворителей и растворенных веществ.

Таким образом, интересующий нас диапазон концентраций смешанного растворителя:

Вода: 77-80 масс. %

Как было отмечено ранее, при распылении раствора в емкость с жидким азотом с использованием сжатого воздуха происходит испарение некоторого количества легкокипящего органического растворителя, поэтому мы предполагаем использовать составы смешанного растворителя с несколько меньшим содержанием воды (77 масс. %), чем состав двойного клатратного гидрата (80,6-80,4 масс. %), однако дальнейшее уменьшение содержания воды нежелательно из-за возможности попадания фигуративной точки системы (после распыления) в область фазовой диаграммы, где одним из компонентов будет ТГФ. В этом случае, температура плавления тройной эвтектики в данной подсистеме будет ниже либо примерно равной -109°С (температура плавления эвтектики (ТГФ - гидрат ТГФ·17H_2O) в двойной системе ТГФ-вода), что приведет к появлению некоторых количеств жидкой фазы с большим содержанием ТГФ при превышении этой температуры, что приведет к растворению и перекристаллизации действующих веществ композиции, драматическому уменьшению удельной площади поверхности и неравномерности распределения действующих веществ в композиции. Для предотвращения этого необходимо будет проводить первую стадию сушки при температурах ниже -109°С, что мы считаем нецелесообразным экономически.В свою очередь, большеесодержание воды нецелесообразно вследствие уменьшения растворимости действующих компонентов (дипропионатбеклометазона и сальбутамол) композиции в данном смешанном растворителе.

ТГФ: 5-15 масс. %, ТБС: 15-5 масс. %

Суммарное содержание ТГФ и ТБС не может превышать 23 масс. %. При этом, снижение содержания ТБС ниже 5 масс. % в данном смешанном растворителе нецелесообразно вследствие критического снижения растворимости дипропионата беклометазона (таблица 10); а при содержании ТБС выше 15 масс. % наблюдалось расслаивание жидкости вследствие существенного снижения растворимости глицина в полученном смешанном растворителе.

Таблица 10. Растворимость дипропионата беклометазона в растворах ТГФ-ТБС-вода

Соотношение ТГФ:ТБС:вода (масс. %)	20:0:80	15:5:80	10:10:80	5:15:80
Растворимость дипропионата беклометазона (мг/г растворителя)	Не растворим	0,5 мг/г	0,75 мг/г	0,9 мг/г

Выбор соотношения компонентов композиции

Соотношение дипропионат беклометазона:сальбутамол:глицин в композиции и, следовательно, диапазон используемых концентраций глицина в используемом смешанном растворителе ТГФ-ТБС-вода выбирали таким образом, чтобы содержание дипропионатабеклометазона/сальбутамола в одной дозе композиции (5 мг либо 2.5 мг в капсуле для ингаляторов сухого порошка) находилось в диапазоне используемых терапевтических доз (от 50 мкг в 2,5 мг до 250 мкг в 5 мг). Итак, поскольку максимальное количество сухих веществ лимитируется растворимостью дипропионатабеклометазона в используемом смешанном растворителе, то для композиций с содержанием дипропионатабеклометазона около 2 масс. % и менее целесообразно использовать концентрацию глицина 25 мг/г смешанного растворителя (при этом концентрация дипропионатабеклометазонасоставляет от 0,5 мг/г растворителя). Для создания композиций с содержанием дипропионатабеклометазона от 2 до 5 масс.% необходимо снижать концентрацию глицина (до 10 мг/г растворителя) при использовании максимально возможной концентрации дипропионата беклометазона в растворе (0,5 мг/г растворителя). Снижение одновременно концентрации дипропионата беклометазона (от максимально возможной) и глицина для создания фармацевтической композиции с содержанием дипропионат абеклометазона от 2 до 5 масс.% экономически нецелесообразно.

Содержание сальбутамола в композициях лимитируется менее строго вследствие лучшей растворимости в используемом смешанном растворителе (таблица 11), однако при повышении соотношения сальбутамол:дипропионат беклометазона более чем в 2 раза, снижается растворимость и скорость растворения дипропионатабеклометазона (таблица 11).

Таблица 11. Совместная растворимость сальбутамола и дипропионата беклометазона в растворах ТГФ-ТБС-вода

ТГФ:ТБС:вода	15:5:80	10:10:80	5:15:80
Максимальная растворимость, мг в 20 г смешанного растворителя	200 мг сальбутамола 10 мг дипропионата беклометазона	200 мг сальбутамола 10 мг дипропионата беклометазона	200 мг сальбутамола 10 мг дипропионата беклометазона

Таким образом, содержание дипропионатабеклометазона в композиции: от 2 до 5 масс%., сальбутамола от 2 до 10 масс., бета-глицин – до 100%.

3.5. Исследование физико-химических свойств полученных композиций сальбутамол-дипропионат беклометазона-глицин

Сравнение порошковых дифрактограмм исходных субстанций и полученных образцов показало (рис. 54), что во всех полученных образцах носитель присутствует в виде метастабильной β-модификации без примеси стабильных полиморфных модификаций; при этом во всех случаях происходит аморфизаци сальбутамола и дипропионата беклометазона. При этом, отсутствие систематического сдвига рефлексов в область малых углов исключает возможность образования твердых растворов сальбутамола либо дипропионата беклометазона на основе *β*-глицина.

Результаты экспериментов с использованием спектроскопии КР показали (рис. 55), что каждое из индивидуальных веществ, т.е. сальбутамол, дипропионат беклометазона и *β*-глицин, характеризуются обычным кристаллическим состоянием, выражающимся наличием в спектрах узких колебательных линий как в области межмолекулярных (кристаллических) (50-200 см$^{-1}$), так и внутримолекулярных колебаний (выше 200 см$^{-1}$). В спектрах композиций только колебательные моды *β*-глицина остаются в виде узких линий, сохраняя при этом неизменной область кристаллических колебаний. Моды внутримолекулярных колебаний сальбутамола и дипропионата беклометазона наблюдаются как очень широкие полосы малой интенсивности, а моды кристаллических колебаний отсутствуют (ниже предела обнаружения).

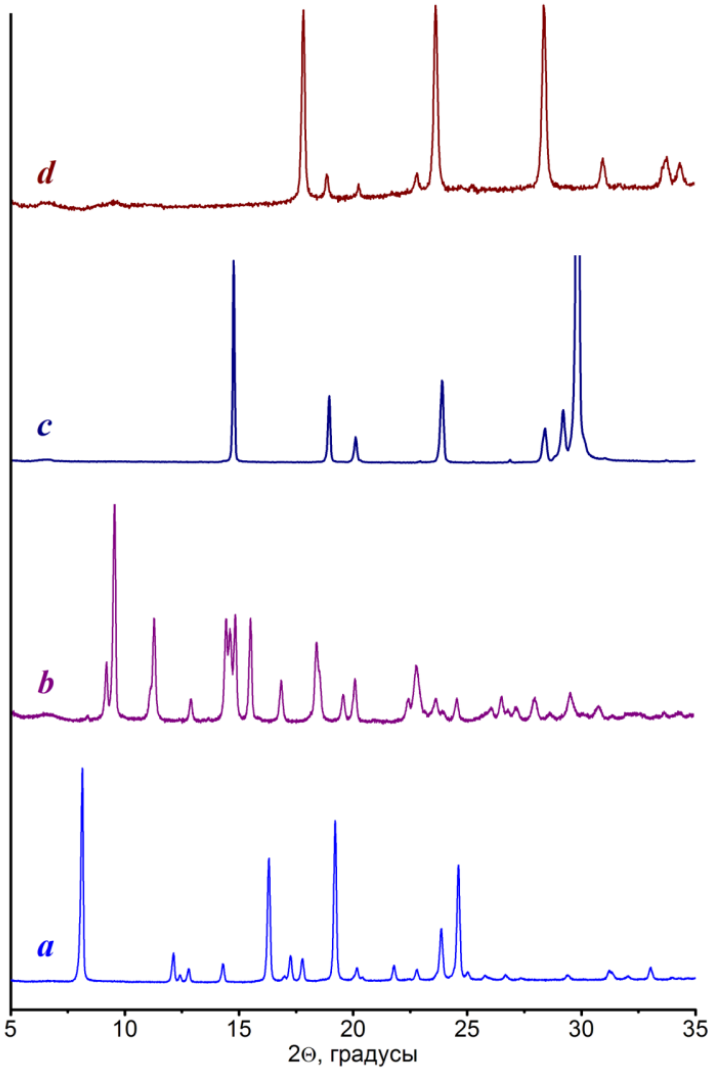

Рис. 54. Порошковые дифрактограммы, a – поликристаллический образец сальбутамола; b – поликристаллический образец дипропионатабеклометазона;c- поликристаллический образец исходного α-глицина; d –комбинированная фармацевтическая композиция сальбутамола и дипропионата беклометазона

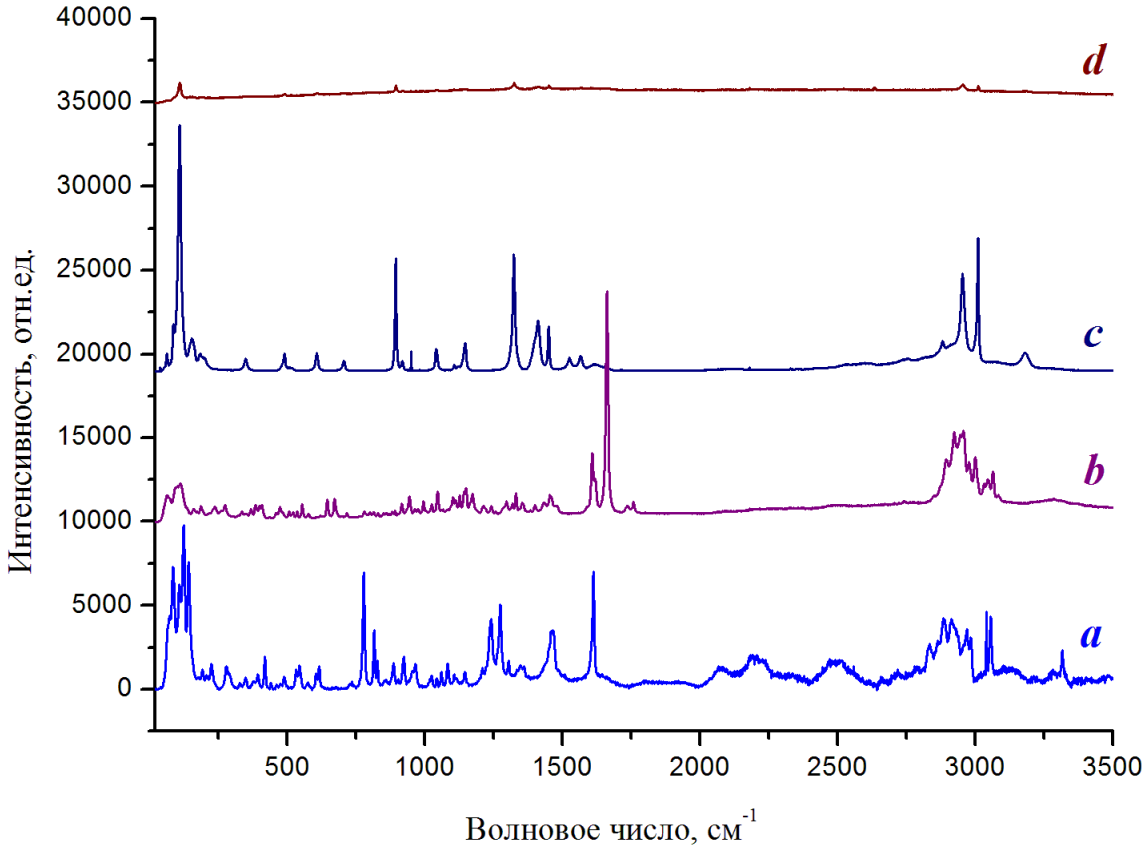

Рис. 55. Спектры КР, a – поликристаллический образец сальбутамола; b – поликристаллический образец дипропионата беклометазона; c– образец β–глицина, полученного в тех же условиях, что и вышеуказанные фармацевтические композиции; d – комбинированная фармацевтическая композиция сальбутамола и дипропионата беклометазона с β-глицином

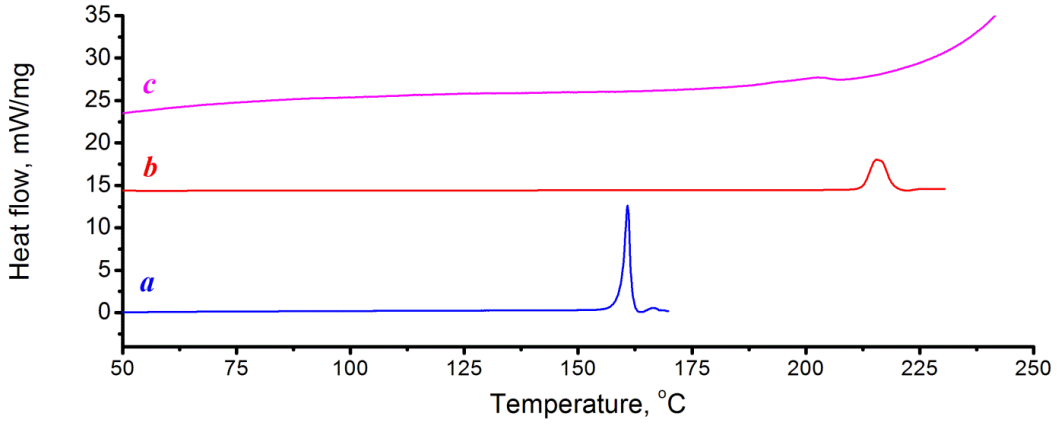

Рис. 56. ДСК кривые образцов a – поликристаллический образец сальбутамола; b – поликристаллический образец дипропионат абеклометазона; c – комбинированная фармацевтическая композиция сальбутамол-дипропионат беклометазона-глицин.

Результаты ДСК экспериментов образцов (рис. 56), содержащих сальбутамол и дипропионат беклометазана, показали, что если в случае индивидуальных образцов исходных лекарственных веществ мы видим пики плавления, что свидетельствует о наличии

кристаллических фаз сальбутамола и дипропионата беклометазона, соответственно, то в случае образца композиции пиков плавления как таковых уже не просматривается.

По данным сканирующей электронной микроскопии (снимки, не приведены), полученные композиции сальбутамол-дипропионат беклометазона-глицин представляют собой совокупность пористых сферических агломератов (размер до 70 мкм) и отдельных фрагментов, образовавшихся при разрушении агломератов, которые представляют собой совокупность объединенных в перфорированные слои отдельных частиц, размер которых составляет несколько десятков нанометров.

Таким образом, полученные образцы сальбутамол-дипропионат беклометазона-глицин представляют собой твердые дисперсные системы, в которых между кристаллитами βглицина находятся аморфные ЛВ.

3.6. Выбор условий сублимационной сушки для получения высокодисперсного ибупрофена

Ибупрофен не растворим в ТГФ, и его водных растворах, для его сублимационной сушки были выбраны растворы 1.4-диоксан-вода и ацетон-вода. На начальном этапе было проведены исследования фазовых превращений в системах ибупрофен-1.4-диоксан-вода и ибупрофен-ацетон-вода.

3.6.1. Исследование фазовых переходов в замороженных растворах ибупрофен-ацетон-вода

Дифракционный эксперимент, проведенный с образцами быстро замороженных растворов ибупрофен–ацетон–вода показал (рис. 57), что при температурах ниже температуры плавления эвтектики в двойной системе ацетон-вода, наблюдались рефлексы, отвечающие фазам низкотемпературной полиморфной модификации ацетона, гидрата ацетона КС-II (Fd3m, a=17.1 Å) и льда I*h* ($P6_3/mmc$, a=4.514 Å, c=7.352 Å). Однако, согласно фазовой диаграмме ацетон-вода (рис. 10Б) при используемых составах (70 масс. % и 50 масс. % ацетона) должны наблюдаться рефлексы гидрата ацетона и ацетона. При распылении раствора в жидкий азот, не происходит полного превращения воды в клатратный гидрат. Можно предположить, что скорость кристаллизации льда выше, чем образование гидрата, а также не происходит реакции между льдом I*h* и ацетоном. Достаточно быстрое снижение интенсивностей наиболее интенсивных рефлексов низкотемпературной полиморфной модификации ацетона свидетельствует об удалении ацетона из исследуемой смеси сублимацией.

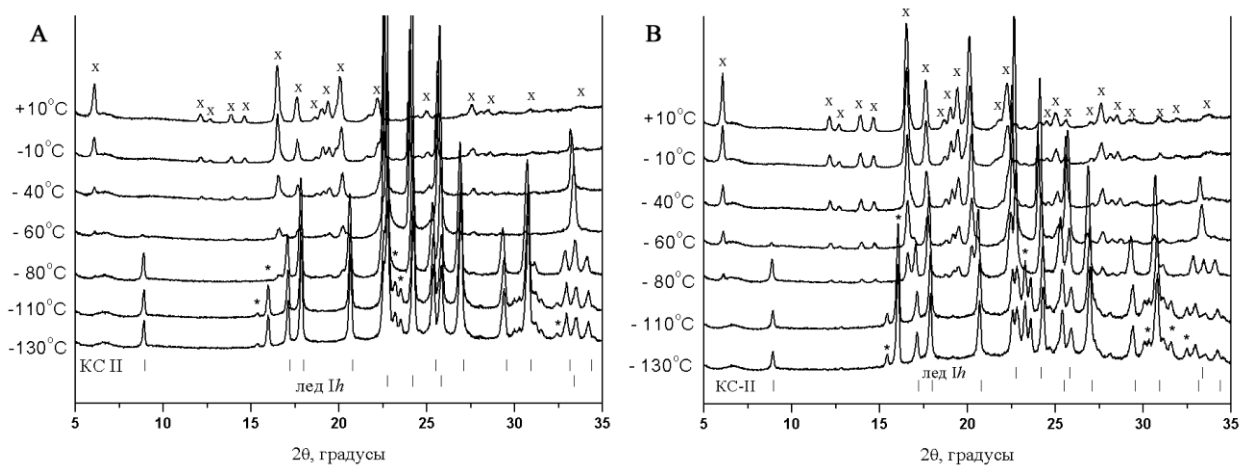

Рис. 57. Дифрактограммы замороженных растворов ибупрофен (10 масс. %)-ацетон-вода, А - 50 % масс. ацетона, В – 70 % масс. ацетона, при различных температурах, атмосферное давление. Рефлексы, относящиеся к клатратному гидрату ацетона КС-II и гексогонального льда приведены внизу;* - обозначены наиболее сильные рефлексы низкотемпературной полиморфной модификации ацетона, x – ибупрофена

Дальнейшее повышение температуры приводит к появлению рефлексов, относящихся к ибупрофену ($P2_1c$), без образования каких-либо ибупрофен-содержащих фаз. К тому же в литературе не найдено данных об существовании сольватов ибупрофена с ацетоном или гидратов. Следовательно до -80°C ибупрофен находится в рентгеноаморфном состоянии.

В случае использования в качестве растворителей системы ацетон-вода лимитирующей стадией сушки становится удаление аморфного ацетона сублимацией при температурах ниже температуры плавления эвтектики в двойной системе ацетон-вода, поскольку неполное удаление ацетона сублимацией при этих температурах приводит к образованию жидкой фазы ацетон-вода с содержанием до 5% масс. воды при температуре -80°C, что приводит к повышению растворимости ибупрофена, его последующей кристаллизации при испарении смеси растворителей и, как следствие, появлению мелких хорошо ограненных кристаллов. Следующая стадия сушки, выполняемая при температуре порядка -20°C, имеет целью разложение гидрата ацетона КС-II и удаление льда I*h* сублимацией. Заключительная стадия сушки проводится при температуре +30°C и имеет целью удаление следовых количеств воды за счет большего давления паров воды при этой температуре, согласно фазовой диаграмме воды.

3.6.2. Исследование фазовых переходов в замороженных растворах ибупрофен-1.4-диоксан-вода

Дифракционный эксперимент, проведенный с образцом замороженного раствора ибупрофен–1.4-диоксан–вода (рис. 58) показал, что при температурах ниже -70°C, на дифрактограммах присутствуют рефлексы клатратного гидрата 1.4-диоксана КС-II, гексагонального льда и высокотемпературной полиморфной модификации 1.4-диоксана (также присутствует некоторое количество метастабильной в данных условиях низкотемпературной полиморфной модификации 1.4-диоксана). При дальнейшем повышении температуры происходит кристаллизация ибупрофена из аморфной фазы. Таким образом, дифракционный эксперимент показал, что при быстром охлаждении раствора ибупрофена в смеси 1.4-диоксан–вода не происходит образования ибупрофен-содержащих промежуточных фаз (например, сольватов или метастабильных полиморфных модификаций ибупрофена). Таким образом, основным требованием к температурному режиму сушки является удаление остаточного количества непрореагировавшей воды (в виде гексагонального льда), с целью недопущения пересечения фигуративной точкой системы линии метастабильной эвтектики (-19°C) (рис.10 C)[75], что может привести к появлению в системе жидких фаз.

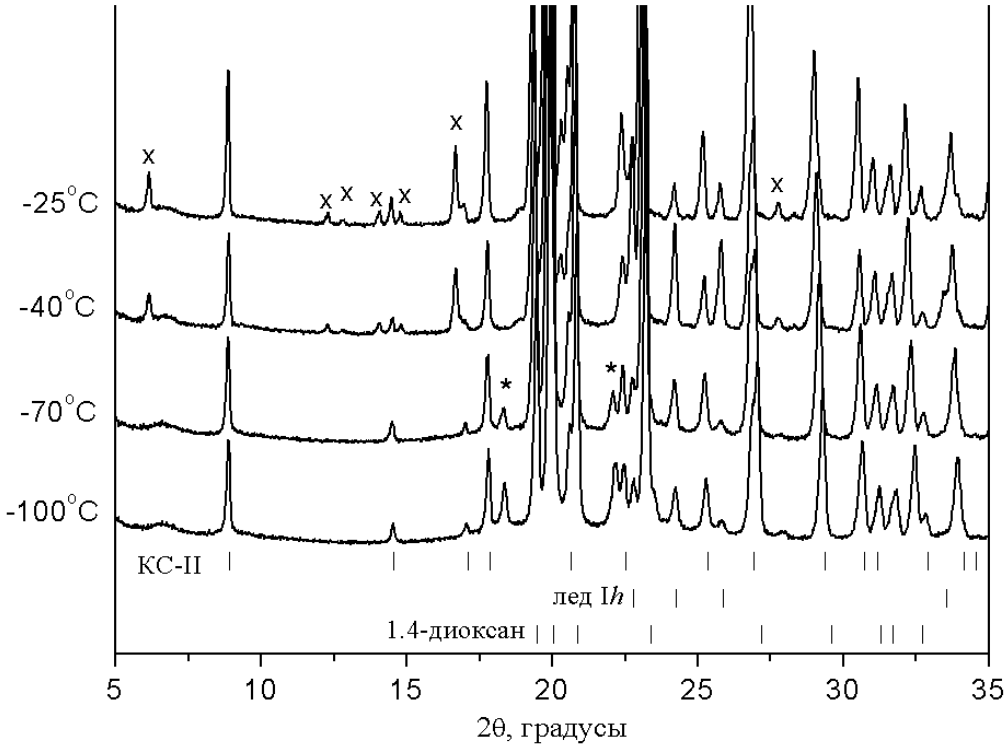

Рис. 58. Дифрактограммы РФА замороженненного раствора ибупрофен (10 масс. %)–1.4-диоксан–вода (30 масс. %). Рефлексы, относящиеся к клатратному гидрату 1.4-диоксана КС-II, гексогонального льда и высокотемпературной полиморфной модификации 1,4-диоксана приведены внизу; *- обозначены рефлексы низкотемпературной полиморфной модификации 1,4-диоксана; x – ибупрофена.

В случае использования в качестве растворителей системы 1.4-диоксан-вода, температура основной стадии сушки во всем диапазоне концентраций 1.4-диоксана (0-100 масс. %) лимитируется температурой метастабильной эвтектики (-19°C). Вторая стадия сушки проводится при температуре +30°C и имеет целью удаление следовых количеств воды за счет большего давления паров воды при этой температуре, согласно фазовой диаграмме воды. Оптимальный для данного метода диапазон концентраций используемого раствора 1.4-диоксан-вода — от 30 до 0 масс. % воды. При большем содержании воды в используемых растворах резко уменьшается растворимость ибупрофена и увеличивается относительная доля льда, который необходимо удалять сублимацией, что приведет к большому росту энергозатрат на единицу массы продукта. Увеличение концентрации 1.4-диоксана приводит к увеличению концентрации ибупрофена в исходном растворе вплоть до состава чистого 1,4-диоксана, который можно удалять сублимацией при температурах до +11.8°C.

Оптимальный для данного метода диапазон концентраций ибупрофена в исходной смеси – 80-95 % от известной на основании известных данных равновесной растворимости

ибупрофена в данной смеси растворителей при заданной температуре (с образованием гомогенного однородного раствора, не допуская появления расслаивания жидкостей). При концентрациях ибупрофена > 95 % необходимо либо подогревание раствора до температуры порядка +50°C, либо длительное перемешивание, что приводит к испарению используемых легколетучих растворителей с соответствующим понижением растворимости ибупрофена в получившейся смеси и увеличению времени подготовки раствора, также необходимости подогревать форсунку (в случае, если применяемый для охлаждения раствора способ заключается в распылении раствора в емкость с жидким азотом) для предотвращения кристаллизации ибупрофена из раствора в подводящем капилляре. При концентрациях ибупрофена < 80 % увеличивается относительная доля растворителей, которые необходимо удалить, что приводит к увеличению времени сушки и энергозатрат на единицу массы продукта [112].

3.7. Свойства, полученных образцов ибупрофена

Образцы ибупрофена, полученные по нашему способу, представляют собой легкие пушистые порошки. Удельная площадь поверхности образцов ибупрофена, вычисленная по сорбции/десорбции N_2, оказалась равной: полученный нами из смеси 1.4-диоксан – вода – 2.6±0.1 $м^2$/г., исходная субстанция – 0.05±0.01$м^2$/г. По данным сканирующей электронной микроскопии, они представляют собой совокупность плоских (толщиной менее 300 нм) частиц размерами 1-10 мкм, объединенных в агломераты размерами 30-100 мкм (рис. 59 a, b, c). Частицы товарных реактивов (рис. 59 d) представляют собой игольчатые кристаллы с максимальным линейным размером до 250 микрон

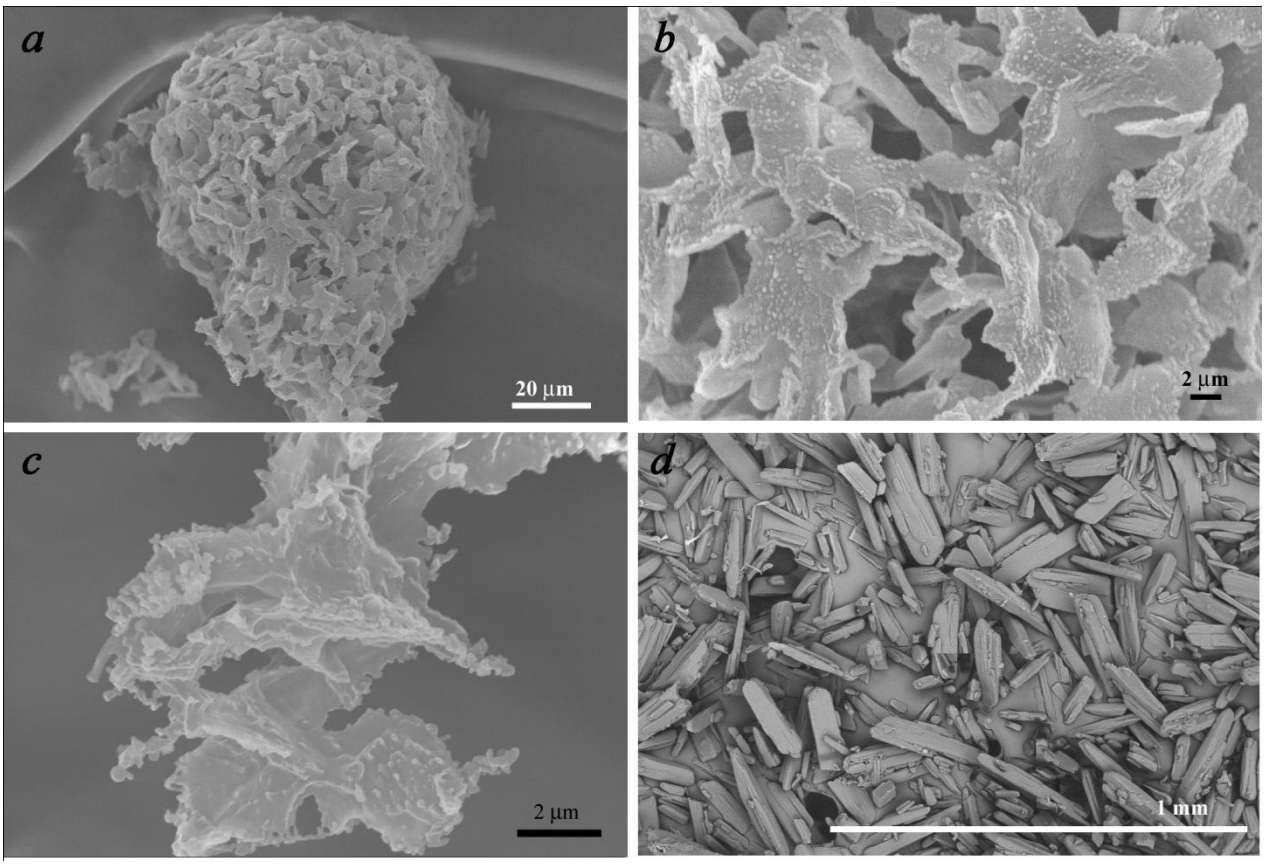

Рис. 59. Снимки СЭМ. Образец ибупрофена, полученный в данной работе из смеси 1.4-диоксан – вода (a,b,c), образец исходной субстанции (d). Масштабный отрезок указан внизу рисунка.

Дифракционный эксперимент, проведенный с использованием синхротронного излучения с регистрацией дифракционной картины на двумерном запоминающем рентгеновском экране, показал отсутствие преимущественной ориентации кристаллитов в плоских частицах ибупрофена, полученных в данной работе (рис. 60).

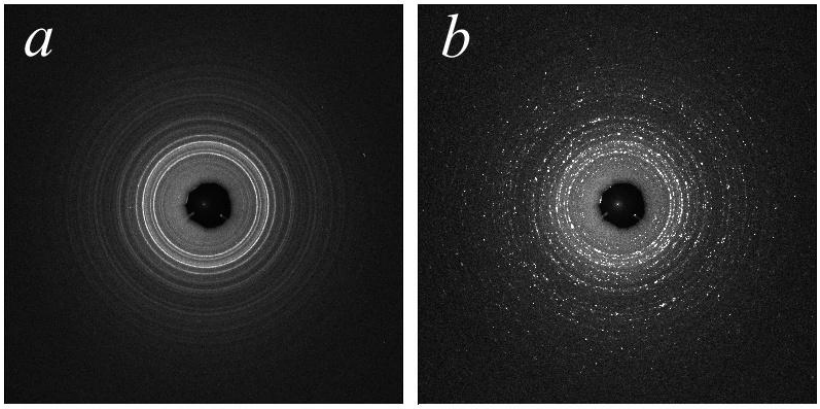

Рис. 60. Дифракционные картины образцов порошка высокодисперсного ибупрофена (a) и исходной субстанции (b).

Образцы ибупрофена, полученные в данной работе, показали существенно лучшую способность к прессованию по сравнению с исходной субстанцией (рис. 61). При давлении

прессования 100 МПа таблетки из исходной субстанции ибупрофена ломались при меньшем разрушающем, чем таблетки из порошков, полученных сублимационной сушкой. Улучшение способности к прессованию образцов, полученных сублимационной сушкой, мы связываем как с изменением формы, так и с уменьшением размера кристаллов. Частицы дисперсных порошков представляют собой тонкие пластинки, у которых высокая поверхность контакта и сила когезии выше, чем у игольчатых частиц товарных реактивов. Данное наблюдение подтверждается снимками СЭМ сколов таблеток, сделанных вдоль диаметра таблетки, то есть перпендикулярно излому (рис. 62). Видно, что в случае образца, полученного в данной работе поверхность таблетки гораздо ровнее. При прессовании агломераты частиц ибупрофена ломаются на составные части – плоские частицы с максимальным размером до 10 мкм, агрегация в поршне происходит гораздо эффективнее, чем в случае игольчатых кристаллов исходной субстанции.

Сравнение динамики растворения образцов ибупрофена, полученные по предложенной нами методике и товарных реактивов, показало, что дисперсные образцы растворяются быстрее (рис. 63) . Практически 100%-ый выход вещества в раствор был отмечен на 30-ой минуте эксперимента, в то время как для исходной субстанции доля растворенного вещества составляла ~50%. При этом, полное растворение исходной субстанции происходило в конце 3-го часа эксперимента. Согласно [6], данный эффект связан с более чем 50 кратным увеличением удельной площади поверхности образцов, получаемых по предложенному нами методу. Частицы, получаемые сублимационной сушкой после быстрого охлаждения, анизотропны, то есть их форма далека от идеальной и поверхность данных частиц состоит из множества граней, а не граней, скорость роста которых максимальна, как в случае кристаллизации частиц в равновесных условиях [113].

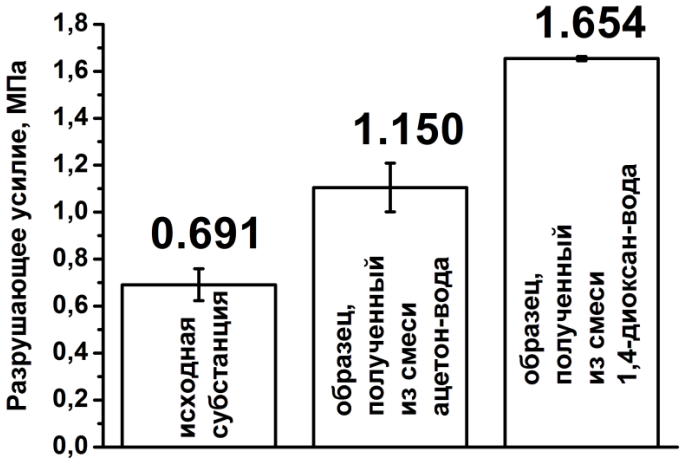

Рис. 61. Сравнение разрушающих усилий таблеток ибупрофена

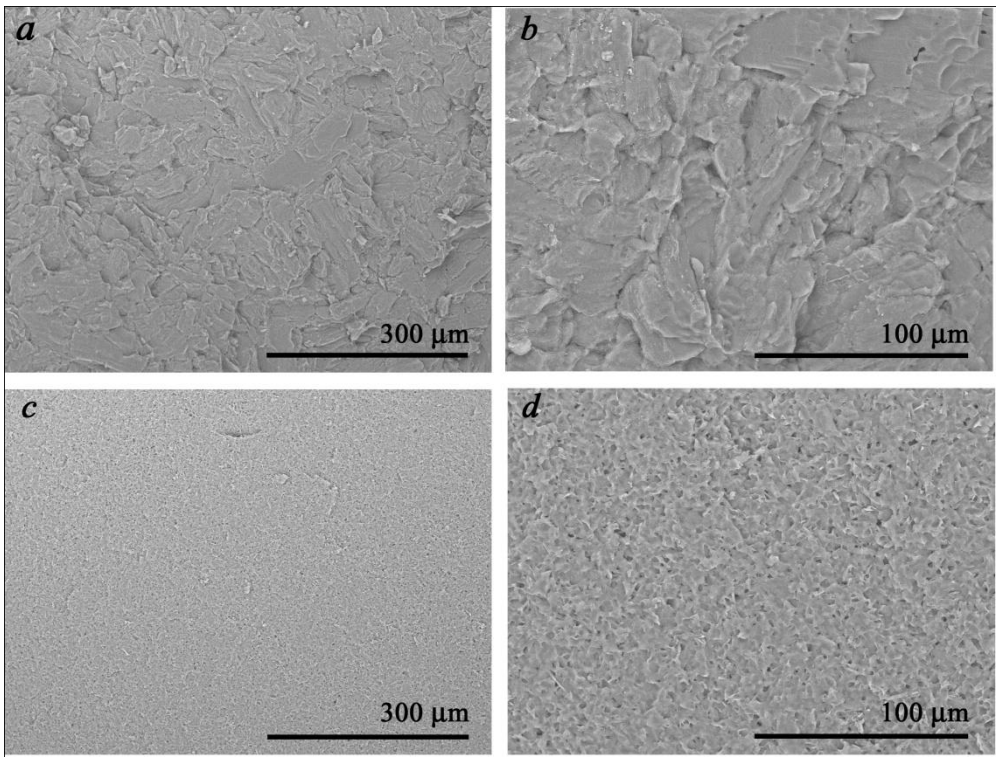

Рис. 62. Снимки СЭМ поверхности таблеток, полученных из образцов ибупрофена: исходной субстанции (a, b), полученный сублимационной сушкой (c, d). Масштабный отрезок указан внизу рисунка.

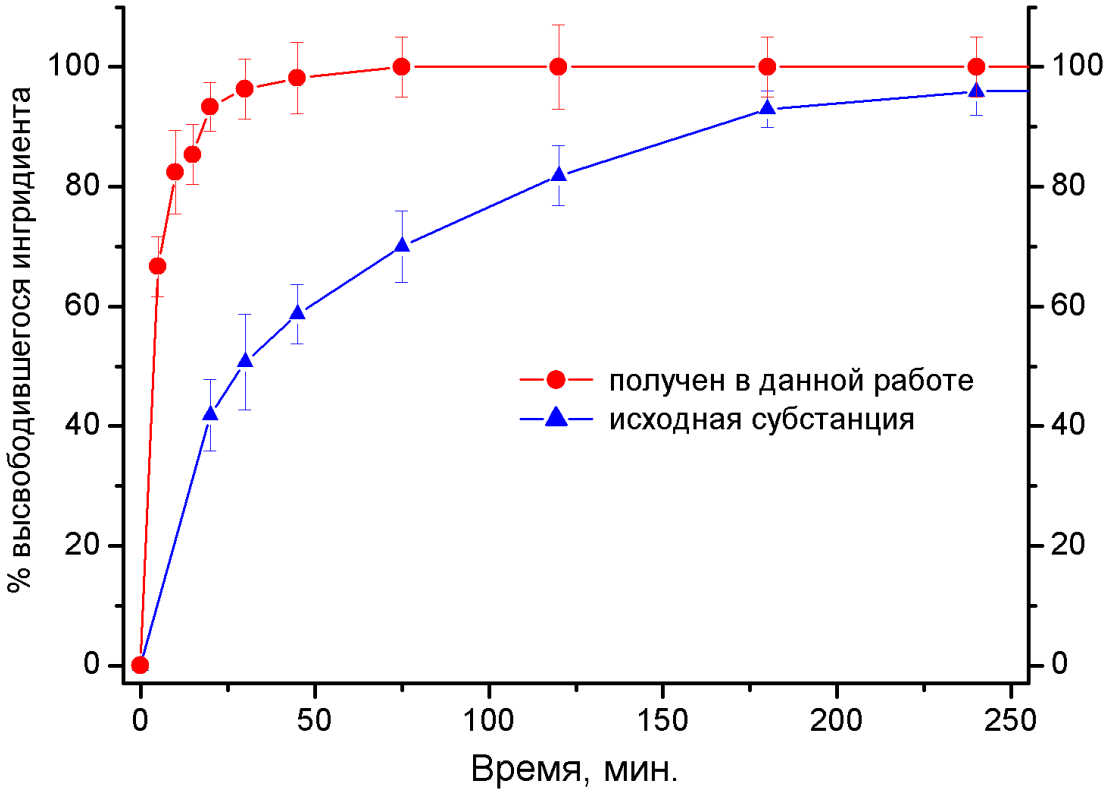

Рис. 63. Динамика растворения образцов ибупрофена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на широкое использования метода сублимационной сушки, в настоящее время в мировой научной литературе имеются единичные примеры использования порошковой дифракции *in situ* для исследования процессов, происходящих при отжиге замороженных водных растворов. В то же время, использование однокомпонентного растворителя (вода), хотя и значительно упрощает проведение эксперимента и идентификацию образующихся фаз, но не решает проблемы получения высокоэффективных лекарственных форм мало растворимых в воде ЛВ (и тем более, создания комбинированных препаратов) с использованием данного метода. Добавление органических растворителей в исходные растворы для сублимационной сушки позволяет получать фармацевтические композиции мало растворимых в воде соединений. Однако это существенно усложняет задачу определения параметров процесса сублимационной сушки.

В диссертационной работе рассмотрены различные варианты охлаждения исходных растворов на примере системы $NaCl$-H_2O, проведено моделирование PT-проекции фазовой диаграммы $NaCl$-H_2O в области низких давлений и температур. Показано, что ход кривой сублимации льда в однокомпонентной системе будет совпадать с кривыми равновесия лед-гидрат-газ и лед-жидкость-газ в двухкомпонентной. Было показано, что при быстром охлаждении растворов в системе глицин-ТГФ-вода образуется клатратный гидрат и лед, а глицин кристаллизуется в виде β-полиморфной модификации при повышении температуры через образование промежуточной фазы X-глицина. На основании полученных данных, строения фазовой диаграммы ТГФ-вода, растворимости глицина и лекарственных веществ, а также необходимости отсутствия в системе жидких фаз в процессе сублимационной сушки, был предложен способ получения твердых дисперсных систем на основе глицина. Рассмотрены закономерности образования твердых дисперсных систем, а именно процессы образования фаз, начиная с быстрого замораживания исходного многокомпонентного раствора, заканчивая получением высокодисперсного порошка. Показано, что в полученных образцах глицин находится в виде β-полиморфной модификации, а ЛВ (сальбутамол, будесонид) находится в ренгеноаморфном состоянии между кристаллитами глицина. На примере глицина показано, что получение дисперсных форм и твердых дисперсных систем позволяет увеличить термическую устойчивость метастабильных полиморфных модификаций Данный результат является перспективным для разработки способов хранения метастабильных полиморфных модификаций молекулярных кристаллов в широком интервале температур. Полученные образцы представляют собой свободно текучие порошки с низкой насыпной плотностью и высокой удельной площадью поверхности. Согласно данным СЭМ они состоят из пористых

сферических агломератов частиц диаметром от 30 до 100 мкм, состоящие из плоских перфорированных листов размерами 1-10 мкм, толщиной менее 100 нм. Благодаря заданной на этапе охлаждения морфологии частиц, образцы сальбутамол-глицин и будесонид-глицин показали существенно лучшие значения респирабельной фракции (59±2 % и 51,2 %, соответственно), чем смеси микронизированных субстанций с грубодисперсной лактозой. Предложенный способ получения пористых сферических агломератов частиц проще в исполнении по сравнению с методом Pulmo Sphere™, который в настоящее время используют для получения композиций для ингаляционного введения.

Для получения твердых дисперсных систем, содержащих 2 лекарственных вещества сальбутамол и дипропионат беклометазона, растворимых в различных растворителях, была изучена система трехкомпонентная система *трет*-бутиловый спирт-*ТГФ*-вода. Методом порошковой рентгеновской дифракции и КР-спектроскопии было показано, что происходит образование двойного клатратного гидрата, представляющего собой твердый раствор на базе инкогрунтноплавящегося клатратного гидрата кубической структуры II. На основании полученных экспериментальных данных и проведенного моделирования предложена схема политермического сечения фазовой диаграммы *трет*-бутиловый спирт-*тетрагидрофуран*-вода в области клатратообразования. Эти данные были использованы для определения температурных режимов сублимационной сушки для получения твердых дисперсных систем дипропионат беклометазона-сальбутамол-глицин.

В работе разработан способ получения высокодисперсной формы ибупрофена, нестероидного противовоспалительного средства, обладающего низкой растворимостью в воде, но высокой приницаемостью клеточных мембран, поэтому высвобождение лекарственного вещества из лекарственной формы является лимитирующей стадией его попадания в системный кровоток. В работе изучены фазовые превращения в системах ибупрофен-ацетон-вода, ибупрофен-1.4-ацетон-вода. Было показано, что эти 2 системы во многом схожи. По данным РФА замороженных растворов в системах не происходит образования сольватов, гидратов ибупрофена. По данным СЭМ полученные образцы ибупрофена состоят из плоских (толщиной менее 300 нм) частиц размерами 1-10 мкм, объединенных в агломераты размерами 30-100 мкм. Благодаря полученной морфологии, порошки ибупрофена показали существенно лучшую способность к прессованию и скорость растворения в сравнении с исходной субстанцией, используемой в промышленности. Ранее микронизированные порошки ибупрофена получали измельчением, что приводило к получению частиц с острыми гранями, что приводило к травмированию слизистых оболочек или кристаллизацией заменой растворителей с подавлением ПАВ, что приводило к необходимости дополнительной стадии отмывки от них.

В работе представлен метод получения высокодисперсных образцов лекарственных веществ с улучшенными свойствами. Полученные образцы пригодны для прямого прессования, растворяются быстрее исходных субстанций и могут быть использованы для приготовления лекарственных форм для ингаляционного введения без применения фреонов. Предложено несколько вариантов использования получаемых твердых дисперсных систем в порошковых ингаляторах: использование композиций *as is* в капсульных порошковых ингаляторах; в порошковых ингаляторах с высокой точностью дозирования; разбавлением композиций с повышенным содержанием ЛВ грубодисперсным либо высокодисперсным носителем. Предложенный метод получения высокодисперсных порошков достаточно универсален в отношении веществ, которые необходимо микронизовать, поскольку ход процесса определяется, в большей степени, свойствами водно-органического растворителя, чем растворенного вещества. Метод может быть с успехом реализован в промышленности для создания не только улучшенных форм лекарственных субстанций, но и других веществ.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Использование метода сублимационной сушки замороженных водно-органических растворов с клатратообразованием позволяет получать твердые дисперсные системы на основе глицина. Это проиллюстрировано на примерах систем: β-глицин-сальбутамол, β-глицин-будесонид, β-глицин-сальбутамол-дипропионат беклометазона.

2. Полученные твердые дисперсные системы представляют собой порошки с высокими значениями удельной площади поверхности, которые состоят из сферических пористых агломератов частиц. Показано, что происходит существенное увеличение значений респирабельной фракции по сравнению с микронизированными образцами сальбутамола и будесонида.

3. В системе тетрагидрофуран-*трет*-бутиловый спирт – вода происходит образование двойного клатратного гидрата, представляющего собой твердый раствор на базе инкогруэнтноплавящегося клатратного гидрата кубической структуры II. На основании полученных экспериментальных данных предложена модель политермического сечения фазовой диаграммы тетрагидрофуран-*трет*-бутиловый спирт-вода в области клатратообразования.

4. Получение твердых дисперсных систем, в которых β-глицин выступает в качестве носителя, позволяет увеличить термическую устойчивость β-глицина по отношению к фазовому превращению β-глицин – α-глицин при нагревании

5. На основе метода сублимационной сушки замороженных растворов с клатратобразованием предложен способ получения дисперсных порошков ибупрофена с улучшенной динамикой растворения и способностью к прессованию по сравнению с субстанцией, используемой в промышленности

Список литературы

1. Уваров, Н. Ф. Размерные эффекты в химии гетерогенных систем / Н. Ф. Уваров, В. В. Болдырев // Успехи химии. - 2001. - Т. 70. - № 4. - С. 307-328.
2. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. / C.A Lipinski., F. Lombardo, B.W. Dominy et al. // Adv. Drug Deliv. Rev. - 2001. - V. 46.- №1-3. - P.3-26.
3. Colour performance of ceramic nano-pigments / P.M.T. Cavalcante, M. Dondi, G Guarini et al. // Dyes and Pigments. - 2009. - V. 80. – P. 226–232.
4. Feldmann, C. Preparation of Nanoscale Pigment Particles / C. Feldmann // Advanced Materials. -2001. – V. 13. - № 17. – P. 1301-1303.
5. Вест, А. Химия твердого тела. В 2 т. Т.1. / А. Вест. – М.: Мир, 1988.-558с.
6. Dokoumetzidis, A. A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System / A. Dokoumetzidis, P. Macheras // Int. J. Pharm. - 2006. - V. 321. - № 1-2. - P. 1-11.
7. Merisko-Liversidge, E., Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds / E. Merisko-Liversidge, G. Liversidge, E. Cooper // Eur. J. Pharm. Sci.- 2003.- V. 18.- P. 113-120
8. Liversidge, G. Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I. Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs / G. Liversidge, K. Cundy // Int. J. Pharm. – 1995. V. 125. - №1. - P. 91-97.
9. Leuner, C. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions / C. Leuner, J. Dressman // Eur. J. Pharm. Biopharm. - 2000. - V. 50. - № 1. - P. 47-60.
10. Janssens, S. Review: physical chemistry of solid dispersions / S. Janssens, G. Van den Mooter // J. Pharm. Pharmacol. - 2009. - V. 61. - P. 1571–1586
11. Hu, J.H. Nanoparticle engineering processes for enhancing the dissolution rates of poorly water soluble drugs / J.H. Hu, K.P. Johnston, R.O. Williams // Drug Dev Ind Pharm. - 2004. - V. 30. - № 3. - P. 233-245.
12. Muller, R.H. Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs I. Preparation by a size-reduction technique / R.H. Muller, K. Peters // Int. J. Pharm. -1998. - V. 160.- P. 229–237.
13. Muller, R.H. Nanosuspension as particulate drug formulations in therapy rationale for development and what we can expect for the future / R.H. Muller, C. Jacobs, O. Kayser // Adv. Drug Deliv. Rev. - 2001. - V. 47. - P. 3–19.
14. Influence of mechanical activation on the physical stability of salbutamol sulphate / K. Brodka-Pfeiffera, P. Langguth, P. Grab, et al // Eur. J. Pharm. Biopharm. - 2003. - V. 56. - P. 393–400.

15. Shariare, M.H. Effect of crystallisation conditions and feedstock morphology on the aerosolization performance of micronised salbutamol sulphate / M.H. Shariare, M. de Matas, P. York // Int. J. Pharm. - 2011. - V. 415. - P. 62-72.
16. Rasenack, N. Micron-Size Drug Particles: Common and Novel Micronization Techniques / N. Rasenack, B.W. Muller // Pharm. Dev. Technol. - 2004. - V. 9. - № 1. - P. 1-13.
17. Rapid dissolution of high-potency danazol particles produced by evaporative precipitation into aqueous solution / X. Chen, J. M. Vaughn, M.J. Yacaman et al // J. Pharm. Sci. - 2004. - V. 93 - № 7. - P. 1867-7188
18. Vehring, R. Pharmaceutical particle engineering via spray drying / R. Vehring // Pharm. Res. - 2008. – V. 25. - № 5. - P. 999-1022.
19. Fundamental analysis of particle formation in spray drying / J. Vicente, J. Pinto, J. Menezes et al // Powder Technol. - 2013 - V. 247.- P. 1-7.
20. http://www.buchi.com/
21. The morphology and various densities of spray dried mannitol / E. M. Littringer, M. F. Noisternig, A. Mescher // Powder Technol. - 2013. - V. 246. - P.193–200.
22. Solid-State Stability of Spray-Dried Insulin Powder for Inhalation: Chemical Kinetics and Structural Relaxation Modeling of Exubera Above and Below the Glass Transition Temperature / N. Sadrzaden, D.P. Miller, D. Lechuga-Ballesteros et al. // J. Pharm. Sci. - 2010. - V. 99. - № 9. - P. 3689-3710.
23. .Amino acid-modified spray-dried powders with enhanced aerosolisation properties for pulmonary drug delivery / P.C. Seville, T.P. Learoyd, H.Y. Li et al. // Powder Technol. / 2007. -V. 178. - № 1. - P. 40-50.
24. Tom, J.W. Particle formation with supercritical fluids—a review / J.W. Tom, P.G. Debenedetti // J Aerosol Sci. - 1991. - V. 22. - № 5. P. 555-584.
25. Зелепугин, Д.Ю. Использование сверхкритических флюидов для получения нано- и микроформ фармацевтических субстанций / Д.Ю Зелепугин, Н.А. Тилькунова, И.В. Чернышова // Сверхкритические флюиды: теория и практика. - 2008. - Т. 3. - № 1. - С. 5-23.
26. Preparation and characterization of raloxifene nanoparticles using Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS) / A. Keshavarz, J. Karimi-Sabet, A. Fattahi et al // J. Supercrit. Fluids. – 2012. – V. 63. - P. 169–179.
27. Polymeric microspheres prepared by spraying into compressed carbon dioxide / R. Bodmeier, H. Wang, D.J. Dixon // Pharm. Res. -1995. -V. 12. - № 8. – P. 1211–1217.

28. Gallagher-Wetmore, P. Application of supercritical fluids in recrystallization: nucleation and gas anti-solvent thechniques / P. Gallagher-Wetmore, M. P. Coffeey, V. Krukonis // Respiratory drug delivery. - 1994. - P. 287-295.
29. Supercritical antisolvent precipitation of salbutamol microparticles / E. Reverchon, G.D. Porta, P. Pallado // Powder Technol. - 2001. - V. 114. - P. 17-22.
30. Aerosolisation behaviour ofmicronised and supercritically-processed powders / B.Y. Shekunov, J.C. Feeley, A.H.L. Chow et al. // J Aerosol Sci. - 2003. - V. 34. -№ 5. - P. 553–568.
31. Serajuddin, A.T.M. Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and resent breakthroughs / A.T.M. Serajuddin // J. Pharm. Sci. - 1999. - V. 88. - № 10. - P. 1058-1067.
32. Vasconcelos, T. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs / T. Vasconcelos, B. Sarmento, P. Costa // Drug Discov. Today. - 2007. - V. 12. - № 23-24. - P. 1068-1075
33. Sekiguchi, K. Studies on absorption of eutectic mixtures. I. A comparison of the behavior of eutectic mixtures of sulphathiazole and that of ordinary sulphathiazole in man / K. Sekiguchi, N. Obi // Chem. Pharm. Bull. - 1961. - V. 9. - P. 866-872.
34. Goldberg, A.H. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures ± theoretical considerations and discussion of the literature / A.H. Goldberg, M. Gibaldi, J.L. Kanig // J. Pharm. Sci. - 1965. - V. 54. - P. 1145-1148.
35. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations / A. Paudel, Z.A. Worku, J. Meeus et al. // Int. J. Pharm. - 2013. - V. 453. - P. 253– 284.
36. Dubois, J.L. Similarities in the release rates of different drugs from polyethylene glycol 6000 solid dispersions / J.L. Dubois, Ford J.L. // Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics. - 1985. - V. 37. – P. 494-495.
37. Халдояниди, К.А. Фазовые диаграммы гетерогенных систем. В 2 ч. Ч.1 / К.А. Халдояниди. - Препринт АН СССР. Сиб.отделение. - ИНХ № 91-04. 1991. - 133 с.
38. Liu, J.S. Physical characterization of pharmaceutical formulations in frozen and freeze-dried solid states: Techniques and applications in freeze-drying development / J.S. Liu // Pharm. Dev. Technol. - 2006. - V. 11. - № 1. - P. 3-28.
39. Oetjen, G.W. Freeze-Drying / Oetjen, G.W., Haseley P. - WILEY-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim. - 2004. - 395 P.
40. Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations / W. Abdelwahed, G. Degobert, S. Stainmesse et al. // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2006. - V. 58. - № 15. P. 1688–1713.

41. Masters, K. Spray Drying Handbook / K. Masters - Longman Scientific & Technical, Essex, England. - 1991. - 725 P.
42. Greaves, R.I.N. The preservation of proteins by drying / R.I.N. Greaves - Med. Res .Counc. Spec. Rep. Ser. No 258: H.M.S.O., London. – 1947. – 54 P.
43. Rowe, T.W.G. The theory and practice of freeze drying / T.W.G. Rowe // Annals of the N.Y. Academy of Science. - 1960. - V. 85. - P. 641-681.
44. Greaves, R.I.N. Recent advantages in freeze-drying. / R.I.N. Greaves // J. Pharm. Pharmacol. - 1962. - V. 14. - № 1. - P. 621–640.
45. Пауэр Б.Д. Высоковакуумные откачные устройства / Б.Д. Пауэр; пер. с англ. М.Н. Ефмимова, А.Г. Нестеренко; под общ. ред. В.И. Кузнецова,- М.: Энергия. - 1969. – 526 с.
46. Верба, М. К. Исследование процесса сушки материалов методом сублимации: Автореферат кандидатской диссертации / М.К. Верба. – МЭИ. - 1955. - 22 с.
47. Лыков А.В. Теория сушки // М.: Энергия. 1968.
48. Третьяков Ю.Д., Олейников Н.Н., Можаев А.П. Основы криохимической технологии // М.: Высшая школа. 1978.
49. Генералов М.Б. Основные процессы криохимической технологии (Теория и методы расчета): учебное пособие // СПБ: ЦОП «Профессия». 2010.
50. Use of thin film freezing to enable drug delivery: a review / K.A. Overhoff, K.P. Johnston, J. Tam et al. // J. Drug Del. Sci. Tech. - 2009. - V. 19. - № 2. - P. 89-98.
51. Леонидов Н.Б., Шабатин В.П., Третьяков Ю.Д. Авторское свидетельство № 1165399 «Способ получения лекарственного средства в виде порошка»
52. Леонидов Н.Б. Патент РФ № 2028289 «Кристаллическая модификация гидрохлорида 2-диметиламиноэтилового эфира п-бутиламинобензойной кислоты и способ ее получения»
53. Formation of stable submicron protein particles by thin film freezing / J.D. Engstrom, E.S. Lai, B.S. Ludher et al. // Pharm. Res. – 2008. - V. 25. - №6.- P. 1334-1346.
54. Spray freezing into liquid nitrogen for highly stable protein nanostructured microparticles / Z.S. Yu, A.S. Garcia, K.P. Johnston et al. // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2004. - V. 58. - P. 529-537.
55. A novel particle engineering technology to enhance dissolution of poorly water soluble drugs: spray-freezing into liquid / T.L. Rogers, A.C. Nelsen, J.H Hu et al. // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2002. - V. 54. - P. 271-280.
56. Sundaramurthi, P. Calorimetry and complementary techniques to characterize frozen and freeze-dried systems / P. Sundaramurthi, R. Suryanarayanan // Adv. Drug Deliv. Rev. - 2012. - V. 64. - P. 384–395.
57. Rational design of stable lyophilized protein formulations: some practical advice / J.F. Carpenter, M.J. Pikal, B.S Chang et al. // Pharm. Res. - 1997. - V. 14. - №8 P. 969–975.

58. Генералов, М.Б. Криохимический способ получения нанометериалов / М.Б. Генералов, Н.С. Трутнев // Химическая технология. - 2007. - Т. 8. - № 6. - С. 244-249.
59. Driesner, T. The system H_2O–NaCl. Part I: Correlation formulae for phase relations in temperature–pressure–composition space from 0 to 1000 C, 0 to 5000 bar, and 0 to 1 XNaCl / T. Driesner, C.A Heinrich // Geochimica et Cosmochimica Acta. - 2007. - V. 71. - P. 4880–4901.
60. Shalaev E., Franks F. Solid-liquid state diagrams in pharmaceutical lyophilisation: crystallization of solutes in Amorphous Food and Pharmaceutical Systems Edited by Harry Levine 352 p
61. Teagarden, D.L. Practical aspects of lyophilization using non-aqueous co-solvent systems / D.L. Teagarden, D.S Baker // Eur. J. Pharm. Sci. - 2002. - V. 15. - P. 115–133.
62. Kasraian, K. Thermal Analysis of the Tertiary Butyl Alcohol-Water System and Its Implications on Freeze-Drying / K. Kasraian, P.P. DeLuca // Pharm. Res. - 1995. - V. 12. - № 4. - P. 484-490.
63. Inorganic Structural Data Base дата обращения 11.03.2013
64. Kasraian, K. The Effect of Tertiary Butyl Alcohol on the Resistance of the Dry Product Layer During Primary Drying / K. Kasraian, P. DeLuca // Pharm. Res. 1995. - V. 12. - № 4. - P. 491-495.
65. Freeze-Drying of an Active Principle Ingredient Using Organic Co-Solvent Formulations: Influence of Freezing Conditions and Formulation on Solvent Crystals Morphology, Thermodynamics Data, and Sublimation Kinetics / R. Daoussi, E. Bogdani, S. Vessot et al. // Drying Technol. - 2011. – V. 29. - № 196. – P. 1858–1867.
66. Telang, C. Crystallization of Cephalothin Sodium During Lyophilization from tert-Butyl Alcohol–Water Cosolvent System / C. Telang, R. Suryanarayanan // Pharm. Res. - 2005. - V. 22. - № 1. - P. 153-160.
67. D.L.Teagarden, W. J. Petre, P. M. Gold. Stabilized prostaglandin E1.U.S. PatentNo.5741523, 1998.
68. .A New Method of Producing Monoclinic Paracetamol Suitable for Direct Compression / A. Ogienko, E. Boldyreva., Yu. Manakov et al. // Pharm. Res. - 2011. - V. 28. - № 12. - P. 3116-3127.
69. Dyadin Y.A., Bondaryuk I.V., Zhurko F.V. Clathrate hydrates at high pressures // In: Inclusion compounds. Oxford University Press. 1991. Vol. 5. - P. 214-275.
70. Enhanced Aqueous Dissolution of a Poorly Water Soluble Drug by Novel Particle Engineering Technology: Spray-Freezing into Liquid with Atmospheric Freeze-Drying / T.L. Rogers, A.C. Nelsen, M. Sarkari et al // Pharm. Res. – 2003 - № 20. - P. 485-493.

71. Improvement of dissolution rates of poorly water soluble APIs using the novel spray freezing into liquid technology / J. Hu, T.L. Rogers, J. N. Brown et al. // Pharm. Res. – 2002. - V. 19 - P.1278–1284.
72. Rosso, J.C. Système binaire eau-tétrahydrofuranne / Rosso J.C., Carbonnel L // Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. - 1971. - V. C273. - № 1. - P. 15-18.
73. Thorpe, B.D. The melting points of the tetrahydrofuran-water system / B.D. Thorpe, K.L Pinder. // Suomen Kemistilehti. – 1965. – V. 38. - № 11.- P.243-244
74. Rosso, J.C. Système eau-acétone / J.C. Rosso, L. Carbonnel // Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. - 1975. - V. C281. - № 18. - P. 699-702.
75. Rosso, J.C. Système binaire eau-1.4-dioksan / J.C. Rosso, L. Carbonnel // Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. - 1971. - V. C272. - № 2. - P. 136-138.
76. Mortom, K.W. Thermodynamic behavior of aqueous solutions of cyclic ethers / K.W. Mortom, R.W. Smith // J. Chem. Thermodyn. – 1971. V. 3 - № 4. - P. 507-512.
77. Ott, J.B. (Solid + liquid) phase equilibria and solid-hydrate formation in water + methyl,+ ethyl, + isopropyl, and + tertiary butyl alcohol / J.B. Ott, J.R. Goate, B.A. Waite // J. Chem. Thermodyn. - 1979. - V. 11. - P. 739-746.
78. Takaizumi, K. The Freezing Process in Methanol-, Ethanol-, and Propanol-Water Systems as Revealed by Differential Scanning Calorimetry / K. Takaizumi, T. Wakabayashi // J. Solution Chemi. - 1997. -V. 26. - № 10. - P. 927-939.
79. Зеленин, Ю.М. Влияние давления на клатратообразование в системе этанол-вода / Ю.М. Зеленин // Структурной химии. - 2003. - Т. 44. - № 1. - С. 130-136.
80. Calvert L.D., Srivastava P. // Acta Cryst. Sect. A. - 1969. - V. 25. - P. S131.
81. Polymorphism of glycine. Thermodinamic aspects. Part I. Relative stability of the polymorphs / E.V. Boldyreva, V.A. Drebushchak, T.N. Drebushchak, et al. // J. Therm. Anal. Calorim. - 2003. - V. 73. - P. 409-418.
82. Hammersley, A.P. Fit2D Program. 1987-2003 European Synchrotron Research Facility.
83. http://www.ruppweb.org/new_comp/xlat_new.htm
84. Hydrate formation in the system n-propanol–water / A.Y. Manakov, L.S. Aladko, A.G. Ogienko et al. // J. Therm. Analys. Calorim. - 2013. V. 111. - № 1. - P. 885-890.
85. Validated UV spectroscopic method for estimation of Salbutamol from tablet formulations / A.K. Mishra, M. Kumar, A. Mishra et al. // Arch. Appl. Sci. Res. - 2010. - V. 2. - P. 207-211.
86. Исследование аэродинамических характеристик порошков с будесонидом для ингаляций / Д.А. Кундоба, И.А. Прокопов, Е.Г. Хомутова и др. // Фармация. - 2011. - Т. 7. - С. 36-39.

87. Изучение сравнительной кинетики растворения лекарственных средств ибупрофена / И.Е. Шохин, Г.В. Раменская, Г.Ф. Василенко и др. // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. - 2009. - Т. 2. - С. 198-201.
88. Fell, J.T. Determination of tablet strength by the diametral-compression test / J.T. Fell, J.M. Newton // J. Pharm. Sci. - 1970. - V. 5. - P. 688–691.
89. Победин О. А. Исследование аэродинамических свойств ингаляционных лекарственных форм с помощью импакционных методов анализа: дис. на соискание ученой степени канд. фарм. наук.: 14.04.02 / Победин Олег Александрович – М., 2010. – 141 с.
90. Способ получения бета-глицина: пат. 2425025 Рос. Федерация: МПК C07C229/08, C07C227/42 / В.В. Болдырев, Е.В. Болдырева, А.Г. Огиенко, А. В. Курносов, А.В. Ильдяков, А.А. Бурдин, А.Ю. Манаков; заявитель и патентообладатель ГОУВПО «Новосибирский государственный университет».- № 2010103223/04; заявл. 01.02.2010; опубл. : 27.07.2011, Бюл. № 21. – 5 с.
91. Киргинцев А.Н. Растворимость неорганических соединений в воде / А.Н. Киргинцев, Л.Н. Трушникова, В. Г. Лаврентьева.- Москва: Химия, 1972. – 248 с.
92. Получение высокодисперсных форм лекарственных препаратов, с использованием сублимационной сушки замороженных растворов в системах с клатратообразованием / А.Г. Огиенко, Е.В. Болдырева, Е. Г. Зевак и др. // ДАН. – 2012. – Т. 444. - № 5. – С. 514-518.
93. Design of new drug forms by cryo-nanotechnologies / A.G. Ogienko, E.V. Boldyreva, E. G. Zevak et al. // JPCS – 2012. – V. 345. – P. 012044.
94. Применение порошковой дифракции in situ для исследования процессов, происходящих при отжиге замороженных растворов в системах с клатратообразованием, в работах по созданию высокоэффективных лекарственных форм нового поколения / А.Г. Огиенко, Е.В. Болдырева, Е.Г. Зевак и др. // Известия РАН, сер. физ. – 2013. – Т. 77. - № 2. – С. 152-155.
95. Исследование процессов, происходящих при отжиге замороженных растворов (стекол) в системах с клатратообразованием в условиях пониженного давления, и их использование для получения высокодисперсных форм лекарственных препаратов / А. Г. Огиенко, Е.В. Болдырева, В.В. Болдырев и др. // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: материалы науч.-практ. конф. - Бийск, 2011. - С.73
96. Drebushchak, V. A. Polymorphic effects at the eutectic melting in the H_2O–glycine system / V. A. Drebushchak, A.G. Ogienko, E.V. Boldyreva // J. Therm. Anal. Calorim. – 2013. – V. 111. - №3. – P. 2187-2191.

97. Pyne, A. Phase transitions of glycine in frozen aqueous solutions and during freeze-drying / A. Pyne, R. Suryanarayanan // Pharm. Res. – 2001. – V. 18. - № 10. – P. 1448-1454.
98. Дизайн нанокомпозитов сальбутамол/глицин для ингаляционной терапии: лекарственная форма нового поколения без использования хладонов / Зевак Е.Г., Огиенко А.Г., Болдырева Е.В. и др. // Нанотехнологии и охрана здоровья. - 2013. – Т. 5. - №3. – С. 30-43.
99. Synthesis and calorimetric investigation of unstable β-glycine / V.A. Drebushchak, E. V. Boldyreva, T.N. Drebushchak et al // J. Cryst. Growth. – 2002. – V. 241 – P. 266–268.
100. Заявка № 2012129783 от 13.07.2012 г. на получение патента «Способ получения высокодисперсных фармацевтических композиций сальбутамола». Болдырева Е.В., Огиенко А.Г., Болдырев В.В., Манаков А.Ю., Мызь С.А., Огиенко А.А., Зевак Е.Г., Ильдяков А.В. Получено положительное решение.
101. Salbutamol – glycine composite microballs for pulmonary drug delivery / E.G. Zevak, A.G. Ogienko, E.V. Boldyreva et al. // Respiratory Drug Delivery Europe.– 2013. – V. 2. – P. 329-334.
102. Nano-salbutamol dry powder inhalation: A new approach for treating broncho-constrictive conditions / Bhavna, F.J. Ahmad, G. Mittal et al. // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2009. – V. 71. - № 2. - P. 282-291.
103. Прокопов И.А. Исследование аэродинамических характеристик лекарственных препаратов для ингаляций: дис. на соискание ученой степени канд. фарм. наук: 14.04.02 / Прокопов Илья Алексеевич. - М., 2011.- 270 с.
104. Newman, S.P., Busse W.W. Evolution of dry powder inhaler design, formulation, and performance / S.P. Newman, W.W Busse // Resp. Med. - 2002. - V. 96. - P. 293-304.
105. Geller, D.E. Development of an Inhaled Dry-Powder Formulation of Tobramycin Using PulmoSphere (TM) Technology / D.E. Geller, J. Weers, S Heuerding. // J Aerosol Med Pulm Drug Deliv. - 2011. - V. 24. - № 4. - P. 175-182.
106. Newman, S. Dry powder inhalers for optimal drug delivery / S. Newman // Expert Opin Biol Ther. – 2004. - V. 4. - № 1. - P. 23-33.
107. Islam, N. Dry powder inhalers (DPIs). A review of device reliability and innovation / N. Islam, E. Gladki // Int. J. Pharm. - 2008. - V. 360. - P. 1-11.
108. The development of a novel dry powder inhaler / X. Zhang, Y. Ma, L. Zhang et al. // Int. J. Pharm. - 2012. - V. 431. - P. 45-52.
109. Кристаллоструктурное исследование метастабильной b-модификации глицина и b-a фазового перехода / Е. В. Болдырева, Т.Н. Дребущак, Ю. В. Сереткин и др. // Журн. структ. хим. – 2002. - Т. 43. -С. 892-900

110. Decreasing particle size helps to preserve metastable polymorphs. A case study of DL-cysteine / V.S. Minkov, V.A. Drebushchak, A.G. Ogienko et al. // Cryst. Eng. Comm. - 2011. - V. 13. - № 13. - P. 417–4426.

111. Китайгородский, А.И. Молекулярные кристаллы / А.И Китайгородский. - Москва: Наука. - 1971. – 424 с.

112. Патент РФ № 2491919. «Способ получения высокодисперсного ибупрофена». Опуб. 10.09.2013. Бюл. №25. Болдырева Е.В., Огиенко А.Г., Болдырев В.В., Манаков А.Ю., Мызь С.А., Огиенко А.А., Зевак Е.Г., Ильдяков А.В., Шахтшнейдер Т.П.

113. Применение методов физической фармации для улучшения свойств лекарственных форм / Е.Г. Зевак, А.Г. Огиенко, С.А. Мызь и др. // Химическая технология. – 2013. - Т. 14. - № 8. – С. 480-492.

Благодарности. *Автор выражает искреннюю благодарность своим научным руководителям: д.х.н., проф., Болдыревой Е.В., к.х.н. Огиенко А.Г. Автор благодарит академика Болдырева В.В., д.х.н. Манакова А.Ю., д.х.н. Колесова Б.А., к.б.н. Огиенко А.А., к.х.н. Красникова А.А., к.х.н. Мызь С.А., к.х.н. Аладко Л.С., к.х.н. Е. Я. Аладко, к.ф.-м.н. Юношева А.С., к.х.н. Дребущак В.А., Ильдякова А.В., Кожемяченко С.И., Трофимова Н.А., Коваленко Ю.Е., а также всех сотрудников лаборатории Клатратных соединений ИНХ СО РАН и НОЦ НГУ «МДиЭБТ»*