



ПОЛУЧЕНИЕ ЛАБОРАТОРНОГО ОБРАЗЦА СУБМИКРО- И/ИЛИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОЙ СУБСТАНЦИИ ПАРАЦЕТАМОЛА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЕГО СТРУКТУРЫ

**М.Ю. НОВИКОВА, О.О. НОВИКОВ
Е.Т. ЖИЛЯКОВА, Д.А. ФАДЕЕВА
Н.Н. ПОПОВ, М.А. ХАЛИКОВА
В.С. КАЗАКОВА**

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: Ezhilyakova@bsu.edu.ru

В статье приведены результаты исследований субстанции парацетамола до и после измельчения: парацетамол неизмельченный представляет собой продолговатые элементы с неровной поверхностью, в процессе измельчения наблюдается уменьшение размеров частиц парацетамола и образование пластинчатых элементов и равноосных частиц. Изучено распределение микрочастиц парацетамола.

Ключевые слова: парацетамол, субмикроструктурирование, микрочастицы.

Введение. Недостаток оригинальных отечественных лекарственных средств, соответствующих современному мировому уровню, является реальной экономической и национальной проблемой России. На российскую фармацевтическую отрасль оказывают влияние негативные факторы, среди которых технологическое отставание от зарубежных производителей с соответствующими различиями в части номенклатуры производимой продукции. Сегмент, по которому отставание приобретает широкий масштаб, представлен наиболее современными лекарствами, производство которых является чрезвычайно емким в отношении использования технологий. На сегодняшний день российская фармацевтическая промышленность производит достаточно ограниченный спектр лекарств, многие из которых можно считать устаревшим. Государство на протяжении последних лет демонстрирует высокую степень интереса к перспективным рынкам. Без сомнения, рынок фармацевтики также относится к их числу. Зависимость от импортных субстанций негативно влияет на лекарственную безопасность страны [1].

Развитие современных технологий, использующих процессы диспергирования, сделало весьма актуальной проблему оптимизации технологических свойств материалов, подвергнутых интенсивным механическим воздействиям. Работы в этом направлении стимулируются необходимостью получения активированных веществ с заданными свойствами в значительной мере оптимизированными, в сравнении с таковыми в исходном состоянии.

Предварительные исследования, в том числе с использованием механохимических приемов, показали, что существующая степень решения проблемы комплексного изучения физико-химических свойств, безопасности фармакологической активности субмикро- и наноструктурированных фармацевтических субстанций требует дальнейшей разработки новых методических подходов и алгоритмов для повышения качества получаемых результатов. Результаты экспериментальных исследований позволяют планировать высокую эффективность и преимущества разрабатываемых в рамках проекта методик по сравнению с используемыми в настоящее время аналогами, что свидетельствует об адекватности избранного направления решаемым задачам.

Тема механохимии и механоактивации достаточно широко рассматривается в исследованиях как отечественных, так и зарубежных авторов [2]. В наиболее обобщающих трудах вопрос освещается в традиционном стиле и подходе, характерном для литературы академической направленности [3-5]. Исследователи не ставят перед собой задачи практического воплощения полученных знаний.

Развитие современных технологий, использующих процессы диспергирования, сделало весьма актуальной проблему оптимизации технологических свойств материалов, подвергнутых интенсивным механическим воздействиям. Работы в этом направлении стимулируются необходимостью получения активированных веществ с заданными свойствами (насыпная плотность, растворимость, вязкость и др.), в значительной мере



оптимизированными, в сравнении с таковыми в исходном состоянии.

Воздействие интенсивных механических полей на вещество является источником различных превращений, связанных как с образованием и деформацией валентных связей, так и с изменением межмолекулярных взаимодействий, что может сопровождаться изменением кристаллической структуры, конформационными превращениями, полиморфными переходами.

Несмотря на то, что первые исследования механохимических воздействий связаны с превращениями органических соединений, до настоящего времени нет однозначных ответов на ряд вопросов о влиянии внешних механических полей на их структуру, свойства, химическую и биологическую активность [6].

Целью данного фрагмента комплексных целевых исследований измененных физико-химических и фармакологических свойств ряда фармацевтических субстанций явилось получение лабораторного образца субмикро- и/или наноструктурированной субстанции парацетамола и экспериментальное подтверждение изменения его структуры.

Для получения субмикроструктурированной субстанции парацетамола было необходимо решить несколько текущих задач:

- определить форму и размер частиц субстанции до субмикроструктурирования и после;
- выбрать режим измельчения;
- определить показатели изменения характеристик.

Рабочая гипотеза состояла в том, что процесс субмикроструктурирования приведет к уменьшению частиц исследуемой субстанции, в результате чего могут сформироваться новые свойства парацетамола – увеличение растворимости и, значит, улучшение биофармацевтических свойств [7]. Таким образом, субмикро-наноструктурирование приведет к увеличению фармакотерапевтического эффекта в первую очередь и формированию других свойств исследуемой субстанции [8].

Материалы и методы. В работе использовали шаровую вибрационную мельницу МЛ-1 с измельчающими элементами или мельницу Retsch RS200 (результаты измельчения сопоставимы), растровый электронно-ионный микроскоп Quanta 200 3D с увеличением до 10000X (табл. 1) (ЦКП НИУ «БелГУ» «Диагностика структуры и свойств наноматериалов»). Кроме того, в работе использовали световой микроскоп на примере субстанций декстрана (вспомогательное вещество) и таурина (лекарственное вещество) с целью изучения его возможностей для решения задач госконтракта.

Таблица 1

Увеличение электронного микроскопа при изучении субстанции парацетамола

0	10	15	30	45
5000X	3000X	6000X	6000X	6000X

При этом, интервалы измельчения выбирались с учетом предварительных экспериментов и их физико-химических свойств: парацетамол – вещество мало растворимое в воде, но имеющее достаточно большой размер частиц, поэтому логично предположить, что для увеличения его растворимости недостаточно временных режимов в 5-10 минут;

Распределение по размерам микрочастиц изучалось с помощью лазерного дифракционного анализатора размера частиц «Analysette 22 NanoТес». В анализаторах, определяющих распределение частиц по размерам посредством лазерной дифракции, используется физический принцип рассеяния электромагнитных волн. Конструкция состоит из лазера, через измерительную ячейку направленного на детектор. При помощи диспергирующего устройства частицы подаются в измерительную ячейку и проходят сквозь лазерный луч. Свет, рассеянный пропорционально размеру частиц, посредством линзы фокусируется на детектор. По распределению рассеянного света при помощи комплексной математики рассчитывают распределение частиц по их размерам. В результате получают объемные доли, соответствующие эквивалентным диаметрам при лазерной дифракции.

Вместе с тем, изучение распределения частиц по размерам проводилось путем анализа фотографий частиц веществ, полученных с помощью растрового электронно-ионного

микроскопа Quanta 200 3D. Расчет среднего размера частиц, распределения частиц по размерам и построение гистограмм осуществлялось в программе Microsoft Office Excel 2007.

Микроскопия требует выбора оптимального увеличения, которое строго индивидуально для каждого образца, так как при большем увеличении изображение становится нечетким и малоконтрастным, с пониженной разрешающей способностью; при меньшем увеличении – изображение объекта, несмотря на четкость и повышенный контраст, становится настолько мелким, что элементы объекта практически неразличимы. Поэтому для объективного анализа распределения по размерам частиц образцов исследуемых лекарственных веществ были отобраны фотографии, сделанные при таком увеличении микроскопа, которое позволяло по масштабной линейке на снимке без затруднений определить как максимальный, так и минимальный размер частиц исследуемого образца. Увеличение микрофотографий, по которым определялось распределение частиц лекарственных веществ по размерам, представлено в табл. 1.

На рис. 1-10 представлены электронные микрофотографии изучаемых образцов.

Как видно из приведенных микрофотографий, парацетамол неизмельченный представляет собой продолговатые элементы с неровной поверхностью. В процессе измельчения наблюдается уменьшение размеров частиц парацетамола и образование пластинчатых элементов и равноосных частиц.

На рис. 11-15 представлены гистограммы распределения микрочастиц порошка парацетамола неизмельченного и измельченного.

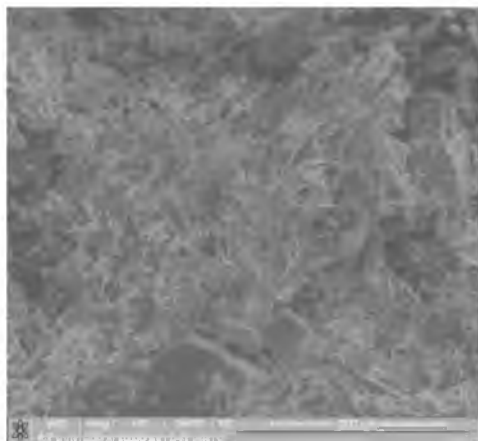


Рис. 1. Микрофотография исходной субстанции парацетамола

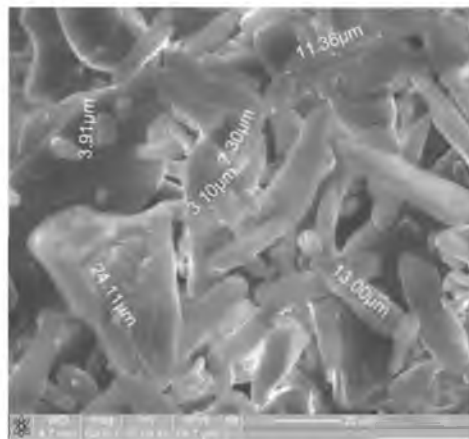


Рис. 2. Микрофотография исходной субстанции парацетамола (крупный план)



Рис. 3. Микрофотография субстанции парацетамола после 10 минут измельчения

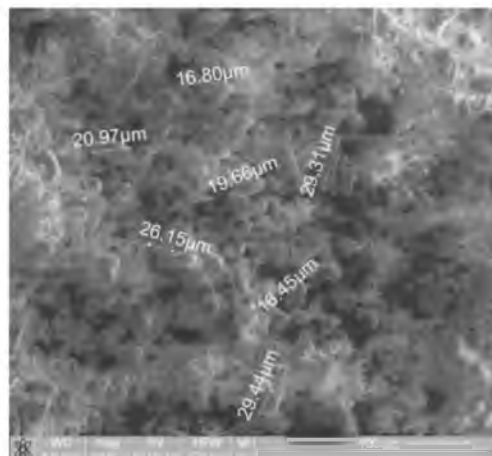


Рис. 4. Микрофотография субстанции парацетамола после 10 минут измельчения (крупный план)

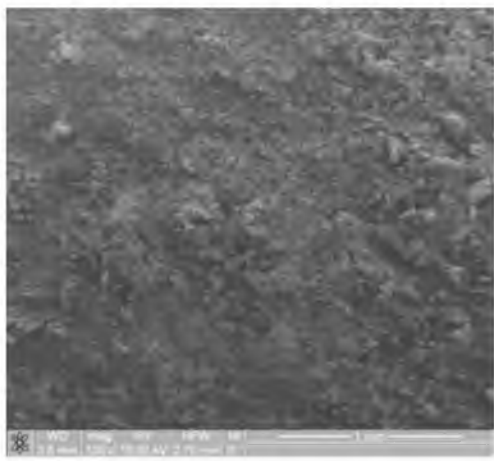


Рис. 5. Микрофотография субстанции парацетамола после 15 минут измельчения

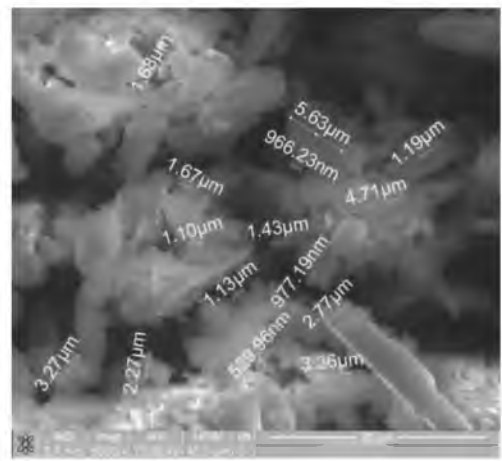


Рис. 6. Микрофотография субстанции парацетамола после 15 минут измельчения (крупный план)

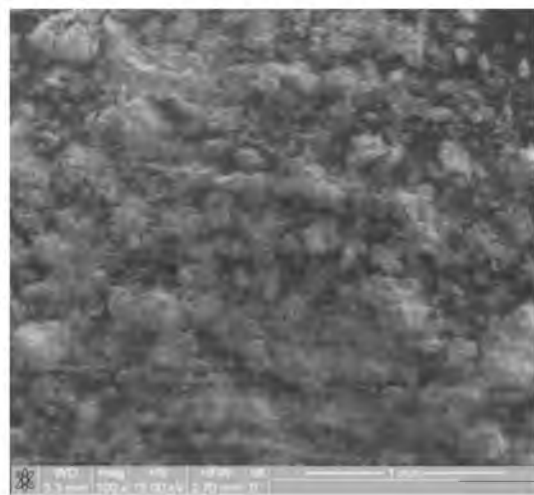


Рис. 7. Микрофотография субстанции парацетамола после 30 минут измельчения

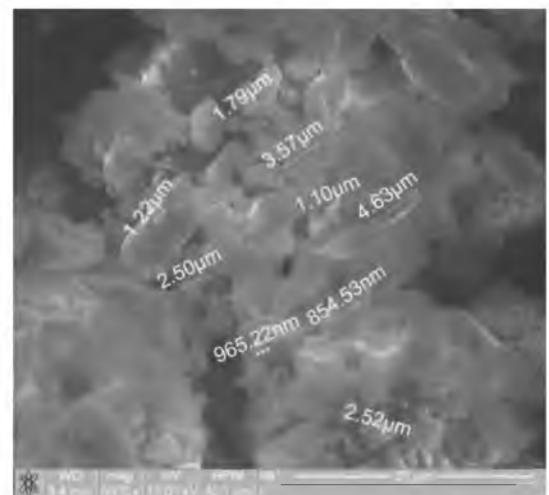


Рис. 8. Микрофотография субстанции парацетамола после 30 минут измельчения (крупный план)

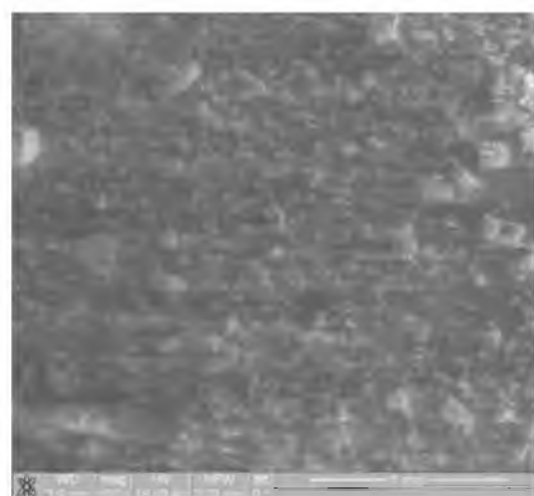


Рис. 9. Микрофотография субстанции парацетамола после 45 минут измельчения

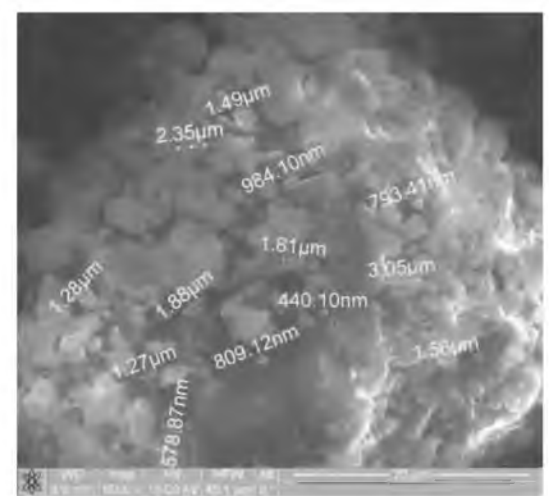


Рис. 10. Микрофотография субстанции парацетамола после 45 минут измельчения (крупный план)

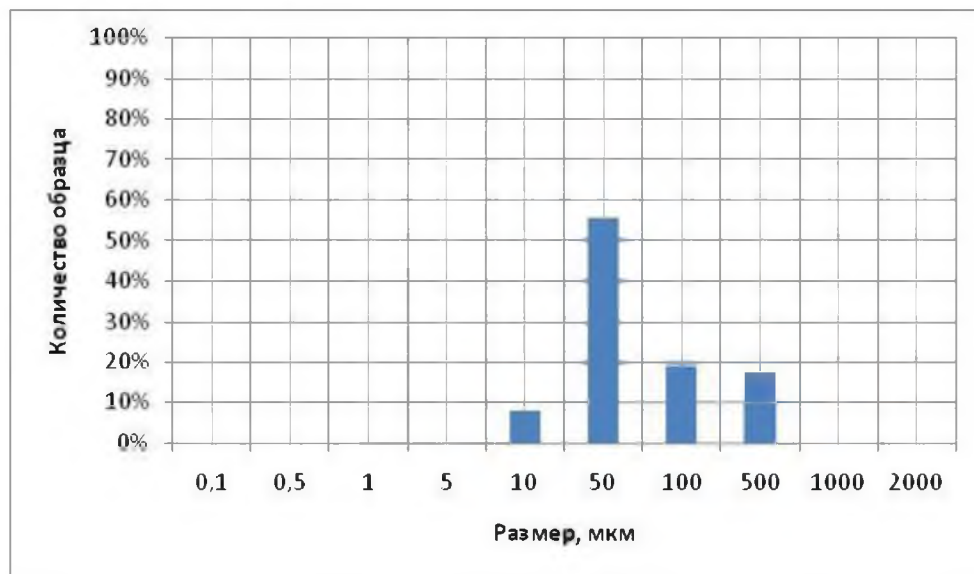


Рис. 11. Распределение по размерам микрочастиц порошка неизмельченного парацетамола

Как видно из рис. 11, для порошка парацетамола неизмельченного характерно наличие частиц со средним размером 45,0-65,0 мкм, количество этой фракции составляет около 55%, количество фракции с размером частиц 0,8-12,0 мкм составляет около 8%. Крупные фракции с размером частиц 85-120 мкм и 450-700 мкм составляют 18 и 17% соответственно.

На рис. 12 представлена гистограмма распределения по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 10 минут.

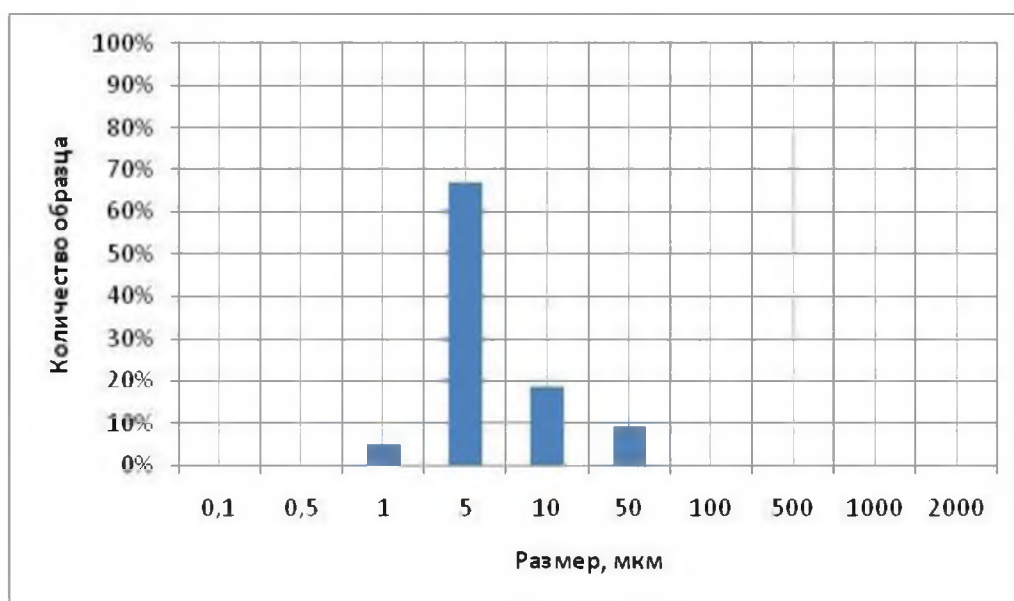


Рис. 12. Распределение по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 10 минут

Как видно из гистограммы, через 10 минут фракционная картина меняется: резко снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 55 до 8%, фракции с размером частиц 85-120 мкм и 450-700 мкм отсутствуют совсем. Увеличивается количество фракции 8,0-12,0 мкм с 8% до 17%, и появляются более мелкие фракции, основной из которых является порошок с размером 3,0-8,0 мкм — 67%. Кроме того, появляется фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм, которая составляет около 6%.

На рис. 13 представлена гистограмма распределения по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 15 минут.

Как видно из гистограммы, через 15 минут фракционная картина меняется мало: снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 8 до 2% и количество фракции 8,0-12,0 мкм с 8% до 5%. Несколько увеличивается наличие фракции с размером частиц 3,0-8,0 мкм с 68 до 72% и более мелкой фракции 0,8-1,2 мкм с 6 до 15%.

На рис. 14 представлена гистограмма распределения по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 30 минут.

Как видно из гистограммы, и через 30 минут фракционная картина меняется мало: по-прежнему снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 2 до 1%, количество фракции 8,0-12,0 мкм увеличивается незначительно: с 10% до 12%.

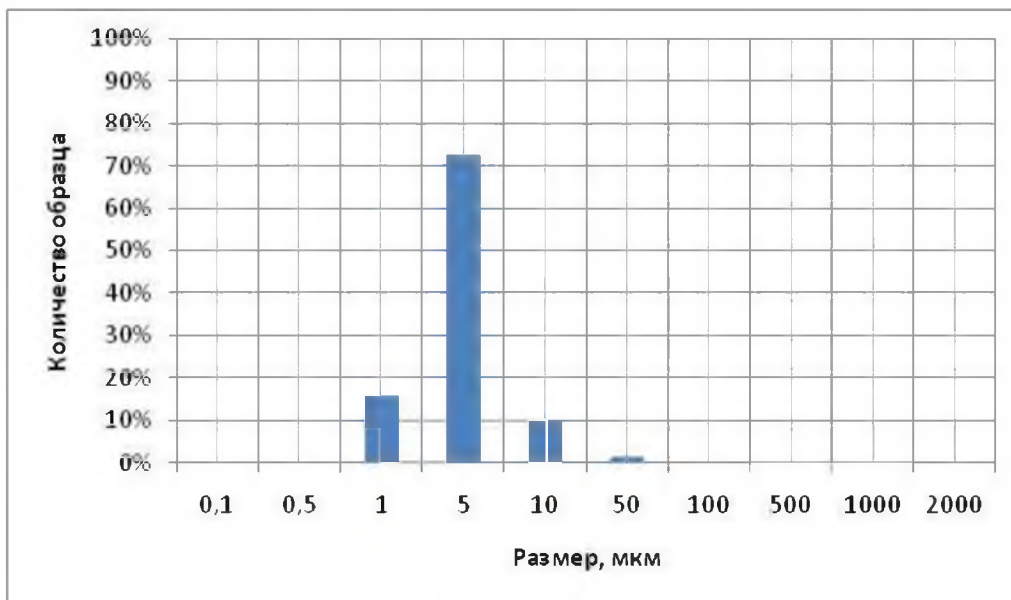


Рис. 13. Распределение по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 15 минут

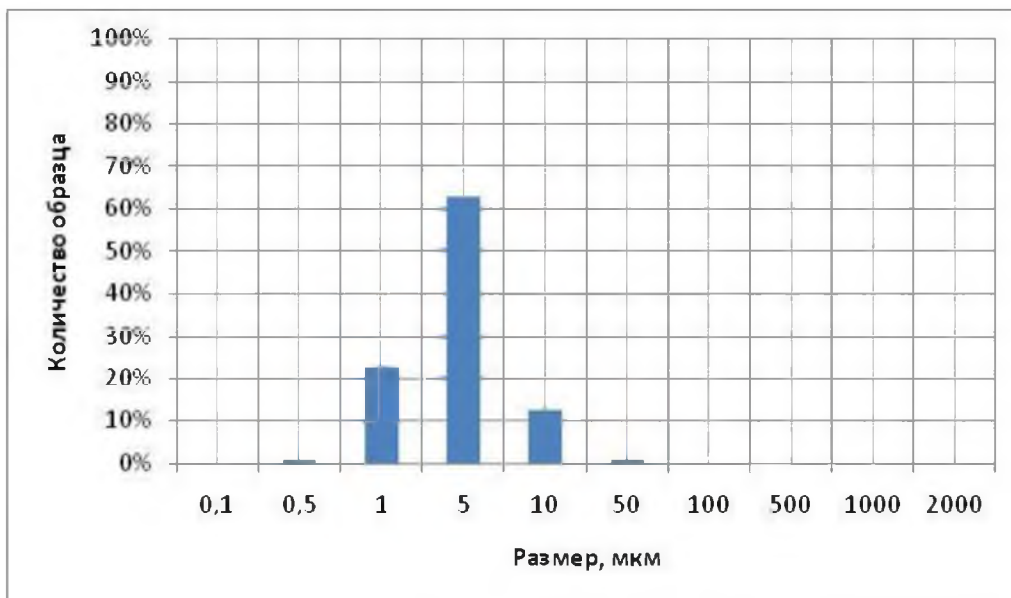


Рис. 14. Распределение по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 30 минут

Также увеличивается наличие более мелкой фракции с размером частиц 0,8-1,2 мкм с 15% до 23%. Кроме того, появляется фракция с размером частиц 0,3-0,8 мкм: хотя ее количество очень мало — около 1%.



На рис. 15 представлена гистограмма распределения по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 45 минут. По сравнению с предыдущей фракционная картина меняется мало.

Для более наглядного отображения и анализа изменения размеров частиц парацетамола данные гистограмм сведены в табл. 2.

Как видно из данных табл. 2, для получения частиц парацетамола рабочей фракции с размером частиц 3,0-8,0 мкм достаточно измельчения субстанции в течение 30 минут.

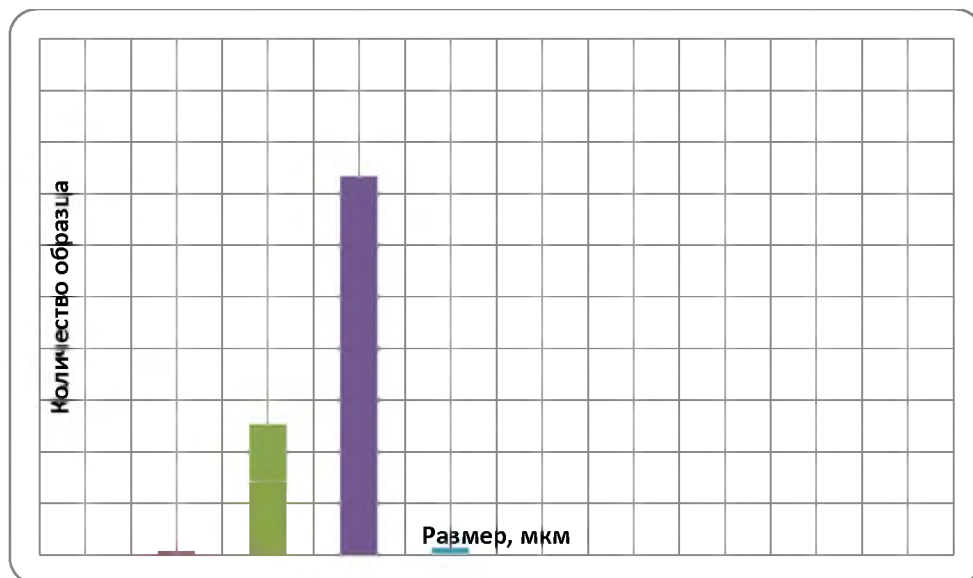


Рис. 15. Распределение по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 45 минут

Таблица 2

Динамика изменения размеров частиц парацетамола

Время измельчения порошка парацетамола, мин	Размеры частиц, мкм/% содержания фракции						
	0,3-0,8	0,8-1,2	3,0-8,0	8,0-12,0	45,0-65,0	85,0-125	450-700
Неизмельченный	-	-	-	10	55	18	17
10	-	5	68	19	8	-	-
15	-	15	72	5	2	-	-
30	1	23	70	12	1	-	-
45	менее 1	26	73	1	-	-	-

Заключение. Проведена электронная микроскопия полученных образцов субмикроструктурированных субстанций парацетамола. Доказано изменение структуры исходной субстанции парацетамола, а именно: парацетамол неизмельченный представляет собой продолговатые элементы с неровной поверхностью, в процессе измельчения наблюдается уменьшение размеров частиц парацетамола и образование пластинчатых элементов и равноосных частиц.

Изучено распределение микрочастиц изучаемых субстанций. Так, для порошка неизмельченного парацетамола характерно наличие частиц со средним размером 45,0-65,0 мкм, количество этой фракции составляет около 55%, количество фракции с размером частиц 0,8-12,0 мкм составляет около 8%. Крупные фракции с размером частиц 85-120 мкм и 450-700 мкм составляют 18 и 17% соответственно. Через 10 минут измельчения фракционная картина меняется: резко снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 55 до 8%, фракции с размером частиц 85-120 мкм и 450-700 мкм отсутствуют совсем. Увеличивается количество фракции 8,0-12,0 мкм с 8% до 17%, и появляются более мелкие фракции, основной из которых является порошок с размером частиц 3,0-8,0 мкм — 67%.



Кроме того, появляется фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм, которая составляет около 6%. Через 15 минут измельчения фракционная картина меняется мало: снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 8 до 2% и количество фракции 8,0-12,0 мкм с 8% до 5%. Несколько увеличивается наличие фракции с размером частиц 3,0-8,0 мкм с 68 до 72% и более мелкой фракции 0,8-1,2 мкм с 6 до 15%. Через 30 и 45 минут измельчения фракционная картина меняется мало: по-прежнему снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 2 до 1%, количество фракции 8,0-12,0 мкм увеличивается незначительно: с 10% до 12%. Также увеличивается наличие более мелкой фракции с размером 0,8-1,2 мкм: с 15% до 23%. Кроме того, появляется фракция с размером частиц 0,3-0,8 мкм, хотя ее количество очень мало — около 1%. Следовательно, для получения частиц парацетамола рабочей фракции с размером 3,0-8,0 мкм достаточно измельчения субстанции в течение 30 минут.

Таким образом, доказано изменение структуры исходной субстанции парацетамола. Изучено распределение микрочастиц изучаемых субстанций. Далее планируется исследование физико-химических и фармакологических свойств изучаемых субмикронных/или наноструктурированных субстанций.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., Государственный контракт № 14.740.11.0119 от 08.09.2010 г. «Комплексные фармакологические и технологические исследования ряда субмикроструктурированных (наноструктурированных) фармацевтических субстанций с доказанными измененными физико-химическими свойствами».

Литература

- 1 Морозова, Л. Тонкая субстанция / Л. Морозова. – Российская бизнес-газета. – 08.12.2009. – Электронный ресурс: Режим доступа: <http://www.rg.ru/2009/12/08/lekarstva.html>
- 2 Ружинский, С. Наследие – механохимия и механоактивация / С. Ружинский. – Электронный ресурс: режим доступа: <http://www.ibeton.ru/a22.php>
- 3 Аввакумов, Е.Г. Механические методы активации химических процессов / Е.Г. Аввакумов. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд., 1986. – 303 с.
- 4 Ходаков, Г.С. Физика измельчения / Г.С. Ходаков. – М.: Наука, 1972. – 240 с.
- 5 Ребиндер, П.А. Физико-химическая механика дисперсных структур / П. А. Ребиндер. – М.: Пищевая промышленность, 1966. – 371 с.
- 6 Микушина, И.В. Превращения структуры древесины при механохимической обработке / И.В. Микушина, И.Б. Троицкая, А.В. Душкини др.// Химия в интересах устойчивого развития. – 2003. – Т. 11, №2. – С. 365–373.
- 7 Жилиякова, Е.Т. Изучение физико-химических и технологических характеристик натрий карбоксиметилцеллюлозы с целью создания пролонгированных лекарственных форм с жидкой дисперсионной средой /Е.Т. Жилиякова, Н.Н. Попов, М.Ю.Новикова и др.// Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2011. – №4 (99). – Вып. 13/2. – С.109-117.
- 8 Кочкаров, В.И. Изучение острой и хронической токсичности растворов декстранов, полученных из супрамикроструктурированной субстанции /В.И. Кочкаров, О.О.Новиков, Е.Т.Жилиякова и др.// Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2010. – №22 (93). – Вып. 12/2. – С.10-14.

GETTING THE LABORATORY SAMPLE OF SUBMICRO- AND/OR NANOSTRUCTURED SUBSTANCE OF PARACETAMOL AND EXPERIMENTAL CONFIRMATION OF CHANGES ITS STRUCTURE

**M.YU. NOVIKOVA, O.O. NOVIKOV
E.T. ZHILYAKOVA, D.A. FADEEVA
N.N. POPOV, M.A. KHALIKOVA
V.S. KAZAKOVA**

Belgorod National Research University
e-mail: EZhilyakova@bsu.edu.ru

The article reflects the results of study of paracetamol's substance before and after shredding: non-crushed paracetamol has oblong elements with rough surface, in the process of grinding particle size reduce and plate elements and equal-axis particles are observed. Studied the distribution of micro-particles of paracetamol.

Key words: paracetamol, submicrostructuring, microparticle