

Ю. А. Обидченко, Н. С. Хучуа, Р. А. Абрамович, А. Ю. Савочкина,
А. С. Карамян, С. С. Барсебян, Ю. Ю. Хомяков, М. В. Овчаров, В. В. Чистяков

ПОЛУЧЕНИЕ МИКРОНИЗИРОВАННОЙ СУБСТАНЦИИ ИБУПРОФЕНА И ОЦЕНКА ЕГО БИОДОСТУПНОСТИ

ФГБОУ ВПО "Российский университет дружбы народов", Москва, Россия

С применением нанораспылительной сушилки ВUСНI В-290 (Mini Spray Dryer В-290, Швейцария), предназначенной для сушки водных растворов или суспензий, получена микронизированная субстанция ибупрофена, отличающаяся от исходной субстанции уменьшенными размерами кристаллов. На кроликах породы шиншилла исследована биодоступность ибупрофена при пероральном применении капсул, содержащих микронизированную субстанцию ибупрофена (размер кристаллов 30 мкм) и капсул, содержащих коммерческую субстанцию ибупрофена (размер кристаллов 150 мкм). Концентрацию неизмененного ибупрофена определяли методом обращенно-фазной ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием при 220 нм. Для извлечения ибупрофена из сыворотки крови кроликов использовали жидкостно-жидкостную экстракцию. Извлечение ибупрофена из сыворотки составило, в среднем, 78 %. Предел обнаружения — 0,1 мкг/мл. Установлено, что по сравнению с коммерческой субстанцией (средний размер кристаллов 150 мкм), биодоступность ибупрофена микронизированного повышается более чем в 2 раза. При этом скорость всасывания ибупрофена и скорость элиминации из системного кровотока остаются одинаковыми.

Ключевые слова: ибупрофен, микронизация, ВЭЖХ, биодоступность.

Одной из актуальных проблем в медицине является терапия острой, в частности, послеоперационной боли. В арсенале обезболивающих средств, применяемых с этой целью, значительное место занимает группа анальгетиков, прежде всего на основе нестероидных противовоспалительных лекарственных препаратов (НПВП), в частности, ибупрофен. Наиболее важным преимуществом ибупрофена, по сравнению с другими представителями НПВП, является его высокая эффективность и безопасность [1–3].

Ибупрофен — нестероидное противовоспалительное, анальгезирующее, жаропонижающее лекарственное средство. Субстанция ибупрофена представляет собой белый кристаллический порошок, практически нерастворимый в воде, хорошо растворимый в органических растворителях (этанол, ацетон). Представляет собой рацемическую смесь *R*- и *S*-энантиомеров.

Фармакокинетика ибупрофена изучена достаточно широко. Ибупрофен хорошо абсорбируется из ЖКТ. Всасывание незначительно уменьшается при приеме препарата после еды. T_{max} при приеме натощак — 45 мин, при приеме после еды — 1,5–2,5 ч, в синовиальной жидкости — 2–3 ч (где создает большие концентрации, чем в плазме). Связывается с белками плазмы на 90 %. Подвергается пресистемному и постсистемному метаболизму в печени. После абсорбции около 60 % фармакологически неактивной *R*-формы ибупрофена медленно трансформируется в активную *S*-форму. В метаболизме препарата принимает участие изофермент СУР2С9. Имеет двухфазную кинетику элиминации с $T_{1/2}$ 2–2,5 ч (для ретард форм — до 12 ч). Выводится почками (в неизмененном виде не более 1 %) и в меньшей степени — с желчью [4–6].

Необходимо отметить, что ибупрофен является относительно безопасным средством лишь при использовании его в низких, анальгетических дозах (до 1600 мг/сут). Повышение дозы этого препарата закономерно сопровождается нарастанием риска развития лекарственных осложнений.

Серьезные побочные эффекты НПВП хорошо известны. Считается, что желудочно-кишечные побочные эффекты являются одними из частых неблагоприятных явлений при применении НПВП [7]. Однако отмечено наличие четкой дозозависимости риска развития НПВП-гастропатии [8].

Вот почему до настоящего времени идет поиск т.н. "золотого стандарта". Решение данной проблемы может лежать в плоскости сохранения биодоступности препарата при существенном снижении дозы. Это может быть достигнуто за счет повышения скорости и степени всасывания при применении микро- и наночастиц субстанции лекарственного вещества.

Вопросам измельчения в фармацевтической технологии придается особое значение. Известно, что с уменьшением размера частиц резко увеличивается поверхностная энергия измельчаемого лекарственного вещества. При тонком измельчении лекарственные вещества лучше растворяются, быстрее и полнее участвуют в химических реакциях и т.д. Измельчение может существенным образом влиять на терапевтическую активность лекарственных веществ вследствие изменения процессов их всасывания. Это происходит при изменении растворимости лекарственных веществ, скоростью которой прямо пропорциональна площади поверхности и обратно пропорциональна величине частиц вещества.

В литературе описано множество примеров увеличения биодоступности лекарственных веществ за счет микронизации субстанций [9 – 14].

В настоящей работе решалась задача получения микронизированной субстанции ибупрофена и исследования его биодоступности на экспериментальных животных.

Экспериментальная часть

В качестве исходной субстанции использовали ибупрофен производства Китай (НД-13488-05).

Микронизацию субстанции ибупрофена проводили на нанораспылительной сушилке BUCHI B-290 (Mini Spray Drier B-290, Швейцария), предназначенной для сушки водных растворов или суспензий с получением порошкообразного продукта за 1 операцию. Растворитель субстанции — этиловый спирт. Расход сушильного агента (воздух) — 90 % от максимально возможного 40 м³/ч. Температура сушильного агента (воздух) — 80 °С. Расход сжатого воздуха по ротаметру 50 мм, что соответствует 1052 л/ч. Подача жидкости насосом составляла 5 % от максимально возможного, что соответствует 2,5 мл/мин.

Микроскопический анализ выполнен на растровом электронном микроскопе Jeol “JSM-6490LV”. Инфракрасные спектры сняты на ИК-Фурье спектрометре Varian “Excalibur HE 3100”.

Для оценки относительной биодоступности использовали кроликов шиншилла 3,4 ± 0,2 кг. Тестируемый препарат (Т) — желатиновые капсулы, содержащие 150 мг модифицированной субстанции ибупрофена серии С610248 от 11.2011 г., производитель — лаборатория фармацевтической промышленной технологии ЦКП(НОЦ) РУДН (средний размер кристаллов 30 мкм). Препарат сравнения (R) — желатиновые капсулы, содержащие 150 мг коммерческой субстанции ибупрофена серии С608058 (средний размер кристаллов 150 мкм). Введение осуществлялось внутривенно (на корень языка) по 1 капсуле 150 мг в одно и то же время. Животные за 1 сут до эксперимента не получали пищи, без ограничения питья.

Время отбора проб крови (из ушной вены): нулевая, 15, 30 мин, 1, 2, 4, 6 ч. Кровь отбирали по 1,5 мл, центрифугировали. Полученную сыворотку замораживали и хранили при температуре – 20 °С до анализа.

ВЭЖХ анализ. Для определения неизмененного ибупрофена использовали метод ВЭЖХ с УФ-детектированием при 220 нм. Хроматографическая система “Agilent 1200”. Колонка Agilent XDB C18, 5 мкм (150 × 4,6 мм). Элюент: ацетонитрил — 0,01 % фосфорной кислота в изократическом режиме (46/54 об. %), скорость потока элюента 1,6 мл/мин. Объем вводимой пробы — 20 мкл. На рис. 1 приведены типичные хроматограммы контрольной и содержащей ибупрофен сыворотки.

Извлечение препарата из сыворотки. К 200 мкл сыворотки добавляли 100 мкл насыщенного раствора хлорида натрия (в 0,1 % растворе муравьиной кисло-

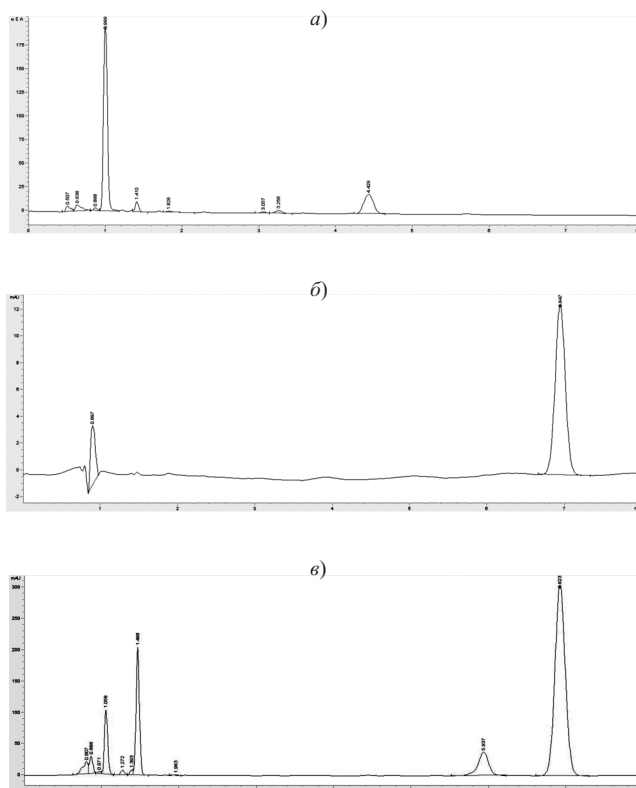


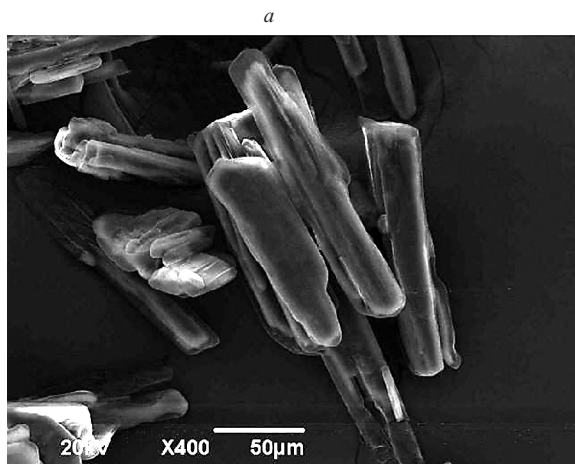
Рис. 1. Хроматограммы пробы контрольной сыворотки крови (а), стандартного раствора ибупрофена 3,9 мкг/мл (б), пробы сыворотки кролика через 15 мин после введения дозы 44 мкг/кг ибупрофена микронизированного (в). По оси абсцисс — время, мин; по оси ординат — поглощение, mAU.

ты) и экстрагировали 1 мл этилацетата. После центрифугирования при 14 тыс. об./мин органический слой 900 мкл отбирали и упаривали в токе воздуха при 40 °С досуха. К сухому остатку прибавляли 100 мкл раствора ацетонитрил — вода (50/50), перемешивали, центрифугировали, отбирали 90 мкл в вials для автоэмплера. Извлечение ибупрофена из сыворотки составило 78 %. Предел обнаружения — 0,1 мкг/мл. Предел количественного определения 0,3 мкг/мл. Для расчета концентрации ибупрофена в сыворотке использовали калибровочный график вида $y = 0,021x + 0,022$, $r = 0,9993$, где y — концентрация ибупрофена (мкг/мл), x — площадь хроматографического пика (mAU · с), r — коэффициент корреляции).

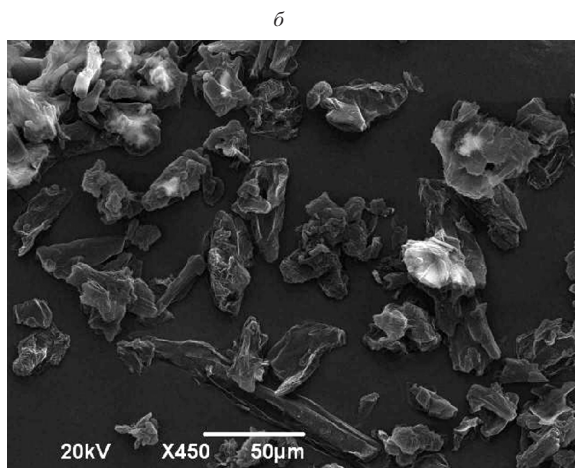
Фармакокинетические параметры рассчитывали на компьютере с использованием программы “M-IND”, статистическая обработка данных проведена с использованием “Excel” графика — “SigmaPlot”.

Результаты и их обсуждение

Поскольку ибупрофен практически не растворим в воде, для проведения процесса микронизации проведен поиск оптимальных растворителей субстанции ибупрофена (четырёххлористый углерод, этиловый спирт, этилацетат, изопропанол, ацетон). Установлено, что оптимальный растворитель — этанол. При проведении процесса появления жидкой фазы на стенках циклона не наблюдалось, продукт частично ссыпается в сборник, частично оседает на стенках циклона.



Исходная субстанция



Микронизированная субстанция

Рис. 2. Оптическая микроскопия исходной (а) и микронизированной (б) субстанции ибупрофена.

На рис. 2 приведены фотографии, полученные с помощью растрового электронного микроскопа исходной и микронизированной субстанции ибупрофена.

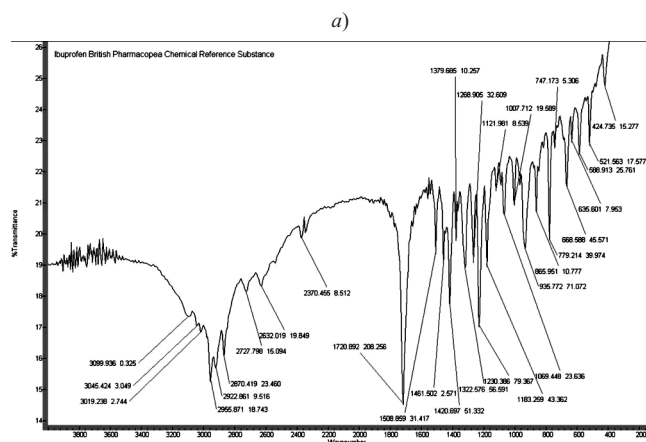
Видно, что исходная субстанция (серия С608058, НД-13488-05) имеет средний размер 150 мкм, после модификации (серия С610248 от 11.2011) — 30 мкм.

На рис. 3 приведены ИК-спектры стандартного образца (СО) и микронизированной субстанции ибупрофена.

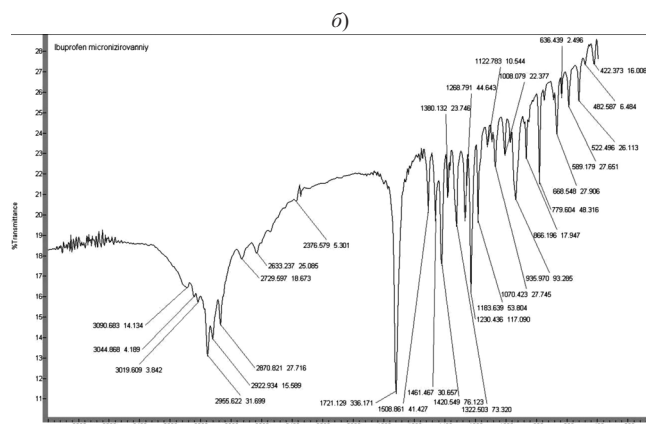
ИК-спектр субстанции ибупрофена по положению полос поглощения соответствует ИК-спектру СО ибупрофена.

Таким образом, в процессе микронизации исходной субстанции произошло только 5-кратное уменьшение размера кристаллов с сохранением целостности молекул ибупрофена.

С целью изучения сравнительной биодоступности 2 типов кристаллических субстанций были определены концентрации неизмененного ибупрофена в сыворотке крови кроликов, рассчитаны основные фармакокинетические параметры, позволяющие охарактеризовать величины площадей под фармакокинетическими кривыми зависимости «концентрация — время» (AUC_{0-t}), время достижения максимальной концентрации (T_{max})



Стандартный образец



Микронизированная субстанция

Рис. 3. ИК-спектр стандартного образца (а) (Европейская фармакопея) и микронизированной (б) субстанции ибупрофена. По оси абсцисс — волновое число, нм; по оси ординат — пропускание, %.

и значения максимальных концентраций (C_{max}). В табл. 1 и 2 представлены основные фармакокинетические параметры: максимальные концентрации, время достижения максимальной концентрации, константа элиминации, параметры среднего времени удерживания, площади под кривыми при применении капсул (T) и (R) ибупрофена в дозе 44 мг/кг.

На рис. 4 показаны фармакокинетические профили ибупрофена у кроликов при применении капсул тестируемого препарата (T) и препарата сравнения (R) соответственно ($n = 6$).

На рис. 5 представлены усредненные фармакокинетические кривые содержания ибупрофена в сыворотке крови кроликов при однократном пероральном применении капсул (R), содержащих 150 мг коммерческой субстанции ибупрофена серии С608058 (средний размер кристаллов 150 мкм) и капсул (T), содержащих 150 мг субстанции ибупрофена серии С610248 (средний размер кристаллов 30 мкм).

С целью сравнительной оценки биодоступности ибупрофена сравнивали значения максимальных концентраций (C_{max}), времени их достижения (T_{max}), средние времена удержания препарата в организме (MRT), площадей под фармакокинетическими кривыми (AUC) и отношения C_{max}/AUC .

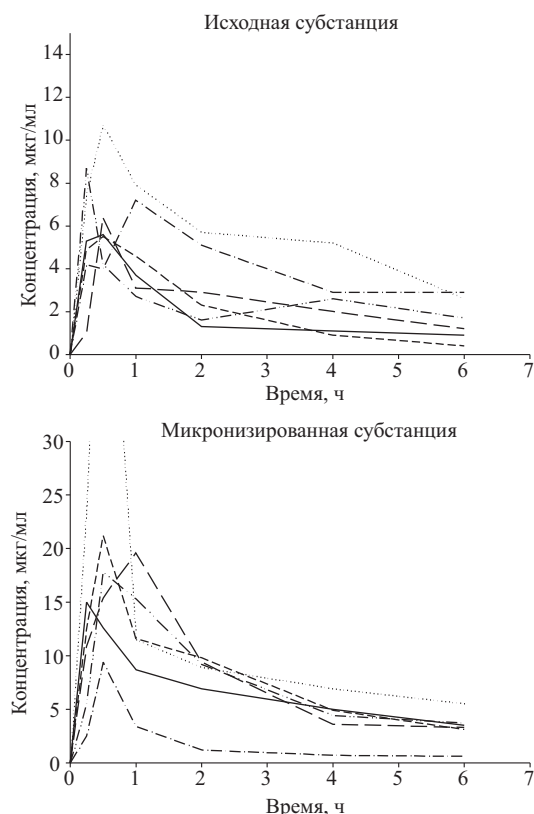


Рис. 4. Фармакокинетические профили ибупрофена у кроликов. По оси абсцисс — время, ч; по оси ординат — концентрация, мкг/мл.

Из приведенных таблиц и рисунков видно, что профиль концентрации ибупрофена при применении микроенизированной субстанции существенно отличается от профиля ибупрофена при применении коммерческой субстанции. В обоих случаях максимальные концентрации фиксируются спустя, в среднем, 0,5 ч после введения препаратов. Вместе с тем значения C_{\max} для микроенизированной субстанции достоверно выше (23,8 против 7,3 мкг/мл).

Период полуэлиминации ($T_{1/2}$) ибупрофена для испытуемого препарата (T) и препарата сравнения (R) практически одинаков и составляет соответственно $3,6 \pm 1,0$ и $3,8 \pm 1,5$ ч (среднее значение $\pm 95\%$ доверительный интервал). Скорости всасывания для обоих типов субстанции ибупрофена близки. Величина C_{\max}/AUC , отражающая скорость всасывания для (T)

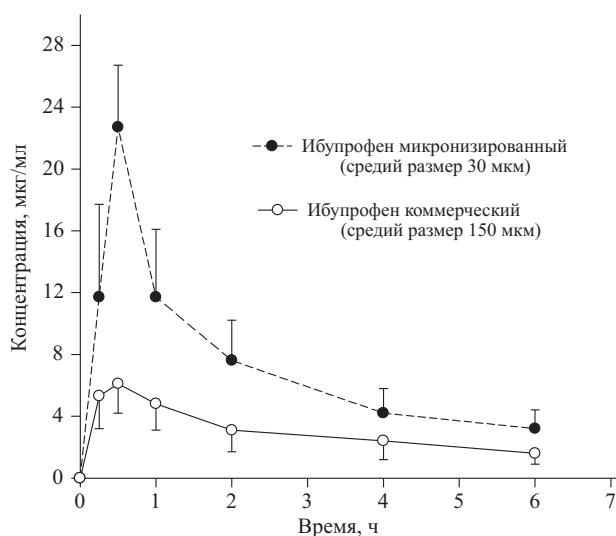


Рис. 5. Фармакокинетические профили ибупрофена (среднее значение $\pm 95\%$ доверительный интервал, $n = 6$).

и (R), составил соответственно $0,564 \pm 0,195$ и $0,429 \pm 0,048$ ч⁻¹.

Наблюдаются достоверные различия в степени всасывания ибупрофена при применении микроенизированной и коммерческой субстанций. Так, согласно табл. 1 и 2, площадь под усредненной фармакокинетической кривой (AUC) при применении испытуемого препарата (T) составляет $43,3 \pm 15,3$, при применении препарата сравнения (R) $18,5 \pm 6,8$ мкг/мл/ч. Относительная биодоступность микроенизированного ибупрофена (F), рассчитанная как отношение площадей под фармакокинетическими кривыми “концентрация — время”, для тест (T) и референс (R)-препарата составила:

$$F = AUC_{(T)}/AUC_{(R)} \cdot 100 = 234 \%$$

Таким образом, при одинаковых скоростях всасывания и элиминации, степень всасывания микроенизированной субстанции ибупрофена из желудочно-кишечного тракта превышает таковую при применении коммерческой субстанции в 2,3 раза.

С применением нанораспылительной сушилки BUCHI В-290 (Mini Spray Dryer В-290, Швейцария), предназначенной для сушки водных растворов или суспензий, получена микроенизированная субстанция

Таблица 1

Фармакокинетические параметры ибупрофена в сыворотке крови кроликов (мкг/мл) при применении тестируемого препарата (T) — капсулы, содержащие 150 мг субстанции ибупрофена серии С610248 (средний размер кристаллов 30 мкм) в дозе 44 мг/кг

№ животного	C_{\max} , мкг/мл	T_{\max} , ч	$T_{1/2}$, ч	MRT , ч	AUC_{0-12} , мкг/мл/ч	C_{\max}/AUC_{0-12} , ч ⁻¹
1	15,0	0,25	4,1	5,7	38,8	0,386
2	60,1	0,5	5,8	6,8	69,8	0,861
3	21,2	0,5	2,4	3,4	47,4	0,447
4	17,8	0,5	3,0	4,2	45,8	0,388
5	19,6	1,0	2,5	3,3	47,6	0,411
6	9,4	0,5	4,0	4,0	10,5	0,895
Среднее значение	23,8	0,5	3,6	4,5	43,3	0,564
Статистическая ошибка	7,4	0,1	0,5	0,5	7,8	0,099
95 % доверительный интервал	14,5	0,2	1,0	1,1	15,3	0,195

Фармакокинетические параметры ибупрофена в сыворотке крови кроликов (мкг/мл) при применении референс-препарата (R) — капсулы, содержащие 150 мг коммерческой субстанции ибупрофена серии С608058 (средний размер кристаллов 150 мкм) в дозе 44 мг/кг

№ животного	C_{\max} , мкг/мл	T_{\max} , ч	$T_{1/2}$, ч	MRT , ч	AUC_{0-t} , мкг/мл/ч	C_{\max}/AUC_{0-t} , ч ⁻¹
1	5,6	0,5	7,5	8,9	11,2	0,500
2	10,7	0,5	3,5	5,1	33,3	0,321
3	5,5	0,5	1,6	2,2	12,4	0,443
4	8,7	0,25	3,7	5,6	15,1	0,576
5	6,4	0,5	3,1	4,7	14,5	0,441
6	7,2	1	3,7	5,7	24,3	0,296
Среднее значение	7,3	0,5	3,8	5,3	18,5	0,429
Статистическая ошибка	0,8	0,1	0,7	0,8	3,5	0,043
95% доверительный интервал	1,6	0,2	1,5	1,7	6,8	0,084

ибупрофена, отличающаяся от исходной субстанции уменьшенными размерами кристаллов (в 5 раз).

Проведенное на кроликах исследование биодоступности микронизированной (средний размер кристаллов 30 мкм) субстанции ибупрофена показало, что по сравнению с коммерческой субстанцией (средний размер кристаллов 150 мкм), биодоступность повышается более чем в 2 раза. При этом скорость всасывания ибупрофена и скорость элиминации из системного кровотока остаются одинаковыми.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственного контракта № 16.552.12.7002 по мероприятию 5.2 ФЦП “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса на 2007 – 2013 годы”.

ЛИТЕРАТУРА

1. J. Page, *Arch. Int. Med.*, **160**, 777 – 784 (2000).
2. Ю. Б. Белоусов, К. Г. Гуревич, *Клин. фармакол. и тер.*, **5**, 5 – 7 (2002).

3. I. D. Brodley, K. D. Brandt, B. P. Kats, *N. Engl. J. Med.*, **325**, 87 – 91 (1991).
4. G. Koselowske, H. Töberich, T. Kerkmann, *Biopharm Drug Dispos.*, **11**(3), 265 – 278 (1990).
5. C. H. Kleinbloesem, M. Ouwerkerk, W. Spitznagel, *Arzneimittelforschung*, **45**(10), 1117 – 1121 (1995).
6. N. M. Davies, *Clin. Pharmacokinet.*, **34**(2), 101 – 154 (1998).
7. G. Singh, *Am. J. of Therapeutics*, **7**, 115 – 121 (2000).
8. S. E. Gabriel, L. Iaakkimainen, *Am. Intern. Med.*, **115**, 787 – 796 (1991).
9. A. Adjei, J. Garren, *Pharm. Res.*, **7**(6), 565 – 569 (1990).
10. R. M. Atkinson, C. Bedford, K. J. Child, E. G. Tomich, *Antibiot. Chemother.*, **12**, 232 – 238 (1962).
11. M. Kraml, J. Dubic, R. Gaudry, *Antibiot. Chemother.*, **12**, 239 – 242 (1962).
12. G. T. McInnes, M. J. Asbury, L. E. Ramsay, J. R. Shelton, *J. Clin. Pharmacol.*, **22**, 410 – 417 (1982).
13. F. Nimmerfall, J. Rosenthaler, *J. Pharm. Sci.*, **69**(5), 605 – 607 (1980).
14. М. С. Лукьянова, Р. А. Иванова, В. М. Куриленко и др., 3-я Всесоюзная конф. по фармакокинетике, Москва (1991), с. 162.

Поступила 08.06.12

PREPARATION OF MICRONIZED IBUPROFEN SUBSTANCE AND ESTIMATION OF ITS BIOAVAILABILITY

U. A. Obidchenko, N. S. Khuchua, R. A. Abramovich, A. U. Savochkina, A. S. Karamyan, S. S. Barsegyan, Yu. Yu. Khomyakov, M. V. Ovcharov, and V. V. Chistyakov

Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198 Russia

Micronized ibuprofen, which differs from the original substance by reduced sizes of the crystals has been obtained using Mini Spray Dryer B-290 (BUCHI Switzerland) designed for drying of aqueous solutions and suspensions. The bioavailability of ibuprofen in the form of peroral capsules containing micronized substance (with an average crystal size of 30 microns) and capsules containing commercial ibuprofen substance (crystal size 150 microns) has been studied in Chinchilla rabbits. The concentration of unchanged ibuprofen in blood serum was determined by HPLC with spectrophotometric detection at 220 nm. The drug detection limit was 0.1 µg/ml. Ibuprofen was extracted from rabbit blood serum by using liquid – liquid extraction. The extraction of ibuprofen from serum was on average 78%. It has been found that the bioavailability of micronized ibuprofen increases more than 2 times as compared to the commercial substance (with an average crystal size of 150 microns). The rate of ibuprofen absorption and the rate of elimination from the systemic circulation remain the same.

Keywords: ibuprofen; micronization; HPLC; bioavailability