

УДК 541.182.64:543.42.062:543.45

## СОВМЕСТНАЯ СОЛЮБИЛИЗАЦИЯ ЛИПОФИЛЬНОГО ЛЕКАРСТВА АМЛОДИПИНА И ГЛИЦЕРИЛ МОНОЛАУРАТА В ВОДНЫХ МИЦЕЛЛЯРНЫХ РАСТВОРАХ ТВИН 80

Н.М. Задымова, Н.И. Иванова

(кафедра коллоидной химии, *zadytova@colloid.chem.msu.ru*)

Методами УФ-спектроскопии и рефрактометрии измерена солюбилизация липофильных амлодипина (Am – гипотензивное лекарство) и неионогенного ПАВ глицерил монолаурата (GML – усилитель проницаемости кожи), а также их совместная солюбилизация (со-солюбилизация) в водных мицеллярных растворах Твина 80 (Tw). Изучены свойства смешанных мицелл (Tw+GML, Tw+Am, Tw+GML+Am): числа агрегации компонентов, локализация солюбилизаторов, коэффициенты диффузии, размеры и степень гидратации. Возникшие в результате со-солюбилизации трехкомпонентные мицеллы (Tw+GML+Am) содержат в 4,2 раза больше молекул лекарства, нежели двухкомпонентные (Tw+Am). Экспериментальные данные по кинетике массопереноса Am мицеллами на основе Tw хорошо согласуются с расчетами в рамках диффузионной теории, при этом трехкомпонентные мицеллы более эффективно переносят Am, нежели двухкомпонентные.

**Ключевые слова:** мицеллы ПАВ, солюбилизация, со-солюбилизация лекарства и усилителя проницаемости кожи, амлодипин, глицерил монолаурат, Твин 80.

Иммунизация липофильных лекарственных препаратов в самоорганизованных в водной среде структурах на основе поверхностно-активных веществ (ПАВ) имеет фундаментальное и практическое значение. Включение лекарства (Л) в мицеллы ПАВ (солюбилизация) позволяет существенно повысить его растворимость в воде, а, следовательно, и биодоступность, а также избежать гидролиза и других типов деградации.

Несмотря на активный интерес к изучению солюбилизации лекарств [1–7], в настоящее время практически отсутствует информация о свойствах двухкомпонентных мицелл (ПАВ+Л), необходимая для прогнозирования возможностей доставки солюбилизированных лекарственных веществ. Нет также данных о солюбилизации Л в смешанных мицеллах на основе гидрофильного мицеллообразующего и липофильного немиллообразующего неионогенных ПАВ (НПАВ) в водной среде. Поскольку липофильные НПАВ зачастую являются эффективными усилителями проницаемости кожи (энхансерами) [8], то трехкомпонентные мицеллы (НПАВ + энхансер + Л) могут оказаться перспективными носителями активных компонентов при трансдермальной доставке.

В задачи данной работы входило комплексное изучение свойств (солюбилизационная емкость, размер, состав, степень гидратации, локализация солюбилизаторов) мицелл, самопроизвольно возникающих в результате солюбилизации и со-солюбилизации

целевых липофильных веществ в водных растворах НПАВ, а также экспериментальная и теоретическая оценка их способности служить в качестве эффективных носителей лекарства.

### Объекты исследования

В качестве солюбилизатора был выбран мицеллообразующий Твин 80 (Tw), представляющий собой полиоксиэтилированный (20) монолеат сорбитана с молекулярной массой ( $M_w$ ), равной 1308 Да, и гидрофильно-липофильным балансом (ГЛБ), равным 15 [9]. Этот препарат («ч.»), изготовленный фирмой «Serva», использовали без дополнительной очистки. Значение критической концентрации мицеллообразования (ККМ) в водной среде, найденное нами методом статического рассеяния света, составляет  $4,6 \times 10^{-5}$  М (20°C, в присутствии 0,01 мас.% азида натрия).

**Солюбилизаты** – амлодипин (Am) и глицерил монолаурат (GML). Амлодипин ((RS)-3-этил 5-метил 2-(2-аминоэтоксиметил)-4-(2-хлорфенил)-6-метил-1,4 дигидропиридин-3,5-дикарбоксилат) фирмы «Afine Chemicals Limited» ( $M_w = 408,9$  Да, 99% чистоты) является современным гипотензивным лекарством, плохо растворимым в воде ( $1,8 \times 10^{-4}$  М [10]), что ограничивает его биодоступность. Амлодипин электро нейтрален, стабилен в растворе, растворимость не зависит от pH, поэтому он может служить в качестве модельного лекарства при изучении солюбилизации в водных растворах ПАВ. Молекулярная масса Am

не превышает 500 Да, что делает его пригодным для трансдермального применения [11].

GML (2,3-дигидроксипропил додеканонат) фирмы «Dermofeel» ( $M_w = 274,4$  Да, ГЛБ = 5,2 [12], «ч.») относится к липофильным НПРАВ, не образует мицелл в водной среде, плохо растворим в воде ( $3,6 \times 10^{-4}$  М при 37°C [13]), активно используется в трансдермальных системах доставки лекарств в качестве усилителя проницаемости кожи [14, 15].

Все растворы, приготовленные на трижды дистиллированной воде, во избежание биоразложения компонентов содержали незначительную добавку (0,01 мас.%) бактерицидного азидата натрия («Merck»).

Гептан, этиловый спирт и полиэтиленгликоль (PEG 400,  $M_w = 400$  Да, среднее число оксиэтильных (ОЕ) групп 8,65) фирмы «Sigma-Aldrich» («х.ч.») использовали без дополнительной очистки.

### Методы исследования

Растворимость или соллюбилизацию ( $S$ ) амлодипина в воде и в водных мицеллярных растворах Твин 80 разной концентрации ( $C_{Tw} = 3-12$  мМ) оценивали с помощью УФ-спектроскопии («Agilent 8453», США). Воду и водные растворы Твин 80 насыщали амлодипином при периодическом перемешивании с помощью магнитной мешалки (несколько суток) вплоть до установления равновесия. Перед спектрофотометрическими измерениями пробу раствора над осадком амлодипина фильтровали (0,22 мкм, «Millipore») и разбавляли водноспиртовой смесью (60/40 по массе), для которой предварительно был определен коэффициент экстинкции амлодипина, соответствующий максимуму поглощения ( $E_{\max} = 6450 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ,  $\lambda_{\max} = 364$  нм). При определении растворимости амлодипина в воде раствор разбавляли в 6,5 раз, во всех остальных случаях – в 50 раз. Спектры образцов фиксировали относительно растворов сравнения, имеющих аналогичный состав, но не содержащих амлодипина.

Метод рефрактометрии, основанный на аддитивности удельной рефракции [16], был выбран для определения соллюбилизации GML в водных растворах Твин 80. Подробности методики и способ расчета значений растворимости подробно описаны нами ранее [17]. Показатели преломления ( $n_D$ ) измеряли с точностью  $\pm 5 \times 10^{-5}$  на рефрактометре «ИРФ-23» (Россия). Необходимые для расчетов значения плотности ( $\rho = 0,997 \text{ г/см}^3$  при 20°C) и показателя преломления ( $n_D = 1,467$ ) для GML взяты из литературных данных [18]. Насыщение растворов Твин 80 энхансером и

подготовку образцов проводили так же, как в случае амлодипина.

В тех случаях, когда мицеллы Твин 80 содержали два соллюбилизата (энхансер и лекарство), растворы при изучении со-соллюбилизации готовили путем поэтапного насыщения (вначале GML, потом Am).

Коэффициенты диффузии ( $D_0$ ) и размеры ( $R_h$  – средний гидродинамический радиус) мицелл определяли методом динамического рассеяния света (DLS), а числа агрегации ( $N$ ) – статического (SLS) с помощью фотометра рассеянного света «PhotoCor SP» ( $\lambda = 632,8$  нм). Образцы фильтровали («Millipore», 0,22 мкм). Методики измерений описаны нами в работах [19, 20].

Массоперенос мицеллами ПАВ соллюбилизированного лекарства изучали с помощью диффузионной ячейки Франца, состоящей из двух частей (донорной и акцепторной), между которыми находится отверстие. В донорную часть помещали испытуемый раствор, на отверстие ячейки – мембрану, а в акцепторную часть – приемную среду и магнитную мешалку. В качестве приемной среды использовали водноспиртовую смесь (состав приведен ранее). Применяли мембрану «MF-Millipore» из биологически инертной смеси эфиров целлюлозы (поры имели диаметр 0,22 мкм, толщину 150 мкм, пористость 75%). Мембраны подобного типа пригодны для определения скорости выделения лекарства из микроэмульсий [21].

Количество амлодипина ( $I_{Am}$ ), диффундировавшее через единицу площади за время  $t$ , рассчитывали по уравнению:

$$I_{Am} = C_{Am} V / a_0, \quad (1)$$

где  $V$  – объем приемной среды ( $7,5 \text{ см}^3$ );  $a_0$  – площадь, через которую диффундирует лекарство, равная площади отверстия диффузионной ячейки ( $0,71 \text{ см}^2$ );  $C_{Am}$  – концентрация амлодипина в приемной среде в момент времени  $t$ , которую определяли спектрофотометрически с использованием определенного нами значения молярного коэффициента экстинкции амлодипина в приемной среде ( $E_{364} = 6950 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ). Пробы отбирали через определенные промежутки времени (не разбавляли) и после измерения возвращали в диффузионную ячейку.

### Результаты и их обсуждение

Изотермы соллюбилизации Am и GML в водных мицеллярных растворах Твин 80 представлены на рис. 1. На этом же рисунке приведена изотерма соллюбилизации амлодипина в растворах Твин 80, пред-

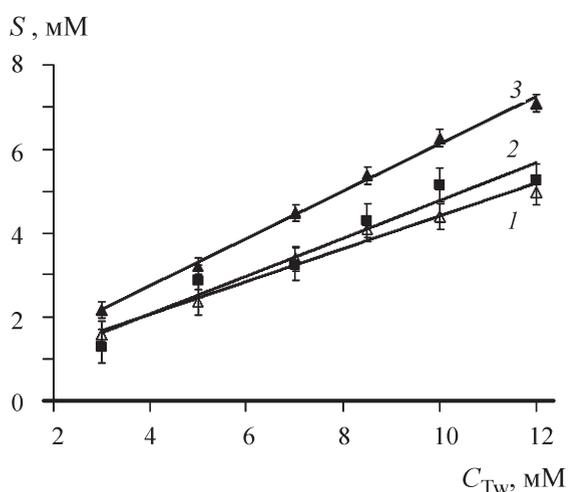


Рис. 1. Изотермы солюбилизации амлодипина (1) и глицерил монолаурата (2) в водных мицеллярных растворах Твин 80, а также амлодипина (3) в растворах Твин 80, насыщенных GML, при 295 К

варительно насыщенных GML. Растворимость солюбилизаторов возрастала при увеличении концентрации мицеллообразующего НПAB, например, для амлодипина при  $C_{Tw} = 12$  mM величина  $S_{Am}$  превышает его растворимость в воде ( $S_w = 2,3 \times 10^{-4}$  M) в 22 раза, а в насыщенном GML растворе Твин 80 – в 31 раз. При такой же концентрации Тw солюбилизация GML возрастает в 14,6 раза по сравнению с растворимостью в воде [13].

Как видно из рис. 1, изотермы солюбилизации  $S(C_{Tw})$  линейны, что служит подтверждением неизменности формы мицелл и позволяет определить их солюбилизационную емкость (CE) по отношению к данному солюбилизатору [22, 23]. Величина CE определяется тангенсом угла наклона линейной изотермы солюбилизации к оси концентраций и характеризует отношение числа молекул солюбилизатора ( $N_{Sol}$ ) и солюбилизатора ( $N_{Tw}$ ) в мицелле. Полученные из соответствующих изотерм солюбилизации (рис. 1) значения CE приведены в табл. 1.

В мицеллярном растворе гидрофильного НПAB в результате солюбилизации самопроизвольно образуются двухкомпонентные мицеллы (Tw + Sol), а при совместной солюбилизации двух солюбилизаторов – трехкомпонентные (Tw + Sol<sub>1</sub> + Sol<sub>2</sub>). Значения средневесовой мицеллярной массы ( $M_m$ ) определяли методом SLS на основе уравнения Дебая [24]:

$$K_o \Delta C / (2\Delta R_{90}) = F_D = 1/M_m + 2A_2 \Delta C, \quad (2)$$

где  $K_o$  – оптическая постоянная раствора [24], определяемая на основе рефрактометрических измерений;  $\Delta C = (C - KKM)$  – концентрация вещества в ассоциированном состоянии (г/см<sup>3</sup>);  $F_D$  – функция Дебая;

$A_2$  – вириальный коэффициент;  $C$  – концентрация ПАВ (в случае индивидуальных мицелл) или суммарная концентрация ПАВ и солюбилизатора (или солюбилизаторов);  $\Delta R_{90} = (R_{90,C} - R_{90,KKM})$  – вклад мицелл в рассеяние света.

Зависимости интенсивности рассеянного света ( $R_{90}$ ) от массовой концентрации вещества в мицеллярной форме для исследованных систем представлены на рис. 2. Во всех случаях эти зависимости линейны, что означает постоянство функции  $F_D$  (см. уравнение 2) и равенство нулю вириального коэффициента  $A_2$ , а также позволяет оценить  $M_m = 1/F_D$ . Полученные для исследованных систем значения  $F_D$  и  $M_m$  приведены в табл. 1.

С учетом уравнения материального баланса для мицеллы с одним солюбилизатором

$$M_m = N_{Tw} M_{Tw} + N_{Sol} M_{Sol}, \quad (3)$$

расчеты чисел агрегации компонентов выполнялись по уравнениям [19]:

$$\begin{aligned} N_{Tw} &= M_m / (M_{Tw} + CE \cdot M_{Sol}) \text{ и} \\ N_{Sol} &= CE \cdot N_{Tw}, \end{aligned} \quad (4)$$

где  $N_{Tw}$  и  $N_{Sol}$  – соответственно количество молекул Твин 80 и солюбилизатора в мицелле;  $M_{Tw}$  и  $M_{Sol}$  – молекулярные массы Твин 80 и солюбилизатора. На основе значений CE (табл. 1) и (4) для исследованных двухкомпонентных мицелл рассчитывали  $N_{Tw}$  и  $N_{Sol}$  (табл. 1). В случае мицелл Твин 80, содержащих два солюбилизатора (Sol<sub>1</sub> и Sol<sub>2</sub>), для которых

$$M_m = N_{Tw} M_{Tw} + N_{Sol1} M_{Sol1} + N_{Sol2} M_{Sol2},$$

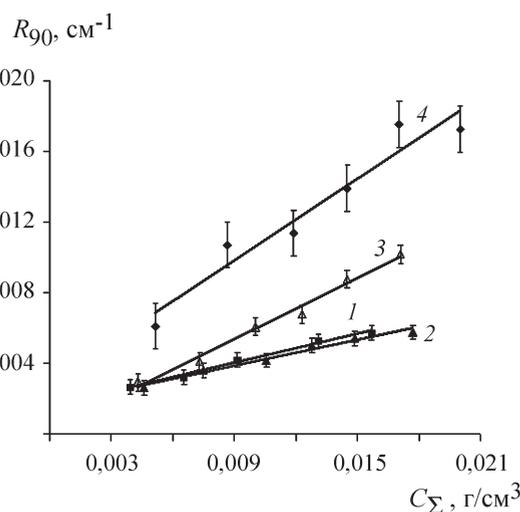


Рис. 2. Зависимости интенсивности рассеяния света от концентрации ( $C_\Sigma$ ) для растворов Твин 80 без солюбилизатора (1), с одним солюбилизатором (2 – Am, 3 – GML) и двумя солюбилизаторами (4 – GML+Am);  $C_\Sigma = C_{Tw}$  (1);  $C_\Sigma = C_{Tw} + S_{Sol}$  (2, 3);  $C_\Sigma = C_{Tw} + S_{GML} + S_{Am}$  (4)

Т а б л и ц а 1

**Свойства мицелл Твин 80 в присутствии и в отсутствие солюбилизаторов при 295 К**  
 (CE – солюбилизационная емкость;  $M_m$  – средневесовая масса мицелл;  $N_{Tw}, N_{GML}, N_{Am}$  – число агрегации солюбилизатора и солюбилизатов;  $n_{w/OE}$  – степень гидратации;  $V_0, R_0, S_0$  – объем, радиус, площадь поверхности гидрофобного ядра;  $\theta$  – степень заполнения поверхности ядра молекулами лекарства;  $R_h$  – средний гидродинамический радиус;  $h_{POE}$  – толщина гидратированного полиоксиэтилированного слоя)

Параметр	Солюбилизат			
	GML (энхансер)	Am (лекарство)	GML + Am	Отсутствуют
CE	$N_{GML}/N_{Tw} = 0,45$	$N_{Am}/N_{Tw} = 0,39$	$N_{Am}/N_{Tw} = 0,56$	0
$*dn_{632,8}/dC_{\Sigma}, \text{см}^3/\text{г}$	0,1315	0,1403	0,1391	0,1299
$*K_0, \text{см}^2/\text{г}^2$	$1,25 \times 10^{-7}$	$1,43 \times 10^{-7}$	$1,40 \times 10^{-7}$	$1,22 \times 10^{-7}$
$*dR_{90}/dC_{\Sigma}, \text{см}^2/\text{г}$	0,0058	0,0024	0,0077	0,0027
$*F_D, \text{г}^{-1}$	$1,08 \times 10^{-5}$	$2,97 \times 10^{-5}$	$9,11 \times 10^{-6}$	$2,26 \times 10^{-5}$
$M_m, \text{г}$	92600±400	33640±120	109830±400	44160±320
$N_{Tw}$	65±0,3	23±0,3	66±0,3	34±0,3
$N_{GML}$	29±1	0	30±1	0
$N_{Am}$	0	9±0,2	38±0,4	0
$n_{w/OE}$	9±0,5	14±0,5	13±0,5	6±0,5
$V_0, \text{нм}^3$	41,8	11,5	42,6	17
$R_0, \text{нм}$	2,15	1,4	2,2	1,6
$S_0, \text{нм}^2$	58,1	24,6	60,8	32,2
$\theta$	–	0,16	0,28	–
$R_h, \text{нм}$	5,0	3,9	5,6	3,6
$h_{POE}, \text{нм}$	2,85	2,5	3,4	2,0

\*Параметры, необходимые для расчета  $M_m$  см. в уравнении 2. Суммарная концентрация раствора ( $C_{\Sigma}, \text{г}/\text{см}^3$ ) равна ( $C_{Tw} + S_{Sol}$ ) или ( $C_{Tw} + S_{Sol1} + S_{Sol2}$ ) соответственно для двух- и трехкомпонентных мицелл.

числа агрегации компонентов оценивали из предложенных нами ранее соотношений [20]:

$$N_{Sol1} = CE_1 \cdot N_{Tw}; N_{Sol2} = CE_2 \cdot N_{Tw} \tag{5}$$

$$N_{Tw} = M_m / (M_{Tw} + CE_1 \cdot M_{Sol1} + CE_2 \cdot M_{Sol2}), \tag{6}$$

где  $M_{Sol1}, M_{Sol2}$  – молекулярные массы солюбилизаторов; значения  $CE_1 = N_{GML}/N_{Tw}$  и  $CE_2 = N_{Am}/N_{Tw}$  найдены из соответствующих изотерм солюбилизации и приведены в табл. 1 наряду с числами агрегации компонентов трехкомпонентных мицелл.

Сравнение чисел агрегации для индивидуальных и смешанных мицелл (табл. 1) позволяет заключить, что солюбилизация GML сопровождается заметным (почти в 2 раза) увеличением числа молекул солюбилизатора в мицелле. Очевидно, что липофильный немиецеллообразующий в водной среде глицерил монолаурат встраивается в мицеллы Твин 80 наряду с

основным НПВ. Это требует инкорпорирования в мицеллу дополнительного количества гидрофильного НПВ. Углеводородное ядро смешанной мицеллы состоит из гидрофобных частей Tw и GML, а их полярные группы располагаются по периферии. Важно отметить, что присутствие GML в мицеллах способствует увеличению числа молекул лекарства в мицелле примерно в 4,2 раза (табл. 1).

Сочетание методов статического и динамического рассеяния света позволяет изучать структурные параметры мицелл. Как известно [25], мерой гидратации мицелл НПВ является число молекул воды, приходящихся на ОЕ-группу гидрофильной части молекулы ( $n_{w/OE}$ ). Поскольку средний гидродинамический объем мицеллы ( $V_h = 4\pi R_h^3/3$ ), рассчитанный по данным DLS, включает гидратную воду, а ее объем ( $V_{th}$ ), определенный методом SLS, соответствует флуктуациям концентрации, т.е. негидратированной мицелле

[26], гидратация мицелл может быть оценена путем сопоставления этих двух объемов. Для мицелл Твин 80 без GML справедливо соотношение:

$$n_{w/OE} = (V_h - V_{th}) \cdot \rho_0 \cdot N_A / (20N_{Tw} \cdot M_0), \quad (7)$$

где  $M_0$  и  $\rho_0$  – молекулярная масса и плотность воды, 20 – число OE-фрагментов в молекуле Твин 80,  $N_A$  – число Авогадро.

С учетом гидратации полярной группы GML ( $-\text{COOCH}_2\text{CHONCH}_2\text{OH}$ ), которую можно рассматривать как приблизительно 4 OE-группы, для мицелл, содержащих энхансер, гидратация определяется уравнением:

$$n_{w/OE} = (V_h - V_{th}) \rho_0 \cdot N_A / [(20N_{Tw} + 4N_{GML}) M_0]. \quad (8)$$

Термодинамический объем мицеллы при условии аддитивности объемов компонентов, входящих в ее состав, может быть записан следующим образом:

$$V_{th} = \sum_i N_i \cdot M_{wi} / (N_A \cdot \rho_i), \quad (9)$$

где  $N_i$ ,  $M_{wi}$  и  $\rho_i$  – соответственно число агрегации, молекулярная масса и плотность  $i$ -го компонента; плотность Tw, GML и Am соответственно равна 1,082, 0,997 и 1,227 г/см<sup>3</sup> (при 20°C).

Значения степени гидратации для исследованных мицелл представлены в табл. 1. Для индивидуальных мицелл Твин 80 (табл. 1) величина  $n_{w/OE}$  хорошо согласуется с результатами работы [26] для полиоксиэтилированного гексадецилового спирта ( $n_{w/OE}$  составляет ~6 молекул воды на 1 OE-группу). Данных о гидратации мицелл, содержащих солюбилизаторы, в литературе нет. В табл. 1 видно, что солюбилизация GML и Am приводит к увеличению степени гидратации мицелл. Более заметное влияние оказывает лекарство, что, по-видимому, обусловлено его локализацией в гидрофильном слое мицелл. Для проверки этой гипотезы необходимо подобрать растворяющую Am среду, моделирующую полиоксиэтилированный (POE) слой мицелл. Для этой цели, на наш взгляд, подходит водный раствор PEG 400, для которого число молекул воды, приходящееся на OE-звено молекулы полиэтиленгликоля, соответствует степени гидратации исследованных мицелл ( $n_{w/OE} = 14 \pm 1$ , табл. 1). По нашим расчетам, этим условиям соответствует раствор 15 мас.% PEG 400.

Известно [27, 28], что УФ-спектроскопия является эффективным методом определения полярности микроокружения солюбилизата, следовательно, и места его локализации в мицелле. В связи с этим было проведено сопоставление спектров поглощения Am в солюбилизованном состоянии (в 5 мМ водных растворах Tw в присутствии и в отсутствие GML) и при

растворении в средах с разной диэлектрической проницаемостью ( $\epsilon = 1,9-80$ ), а следовательно, и полярностью. Значения длины волны ( $\lambda_{\text{макс}}$ ), соответствующей максимуму поглощения амлодипина для разных растворителей, и их диэлектрическая проницаемость [29–31] приведены в табл. 2. Видно, что  $\lambda_{\text{макс}}$  убывает с уменьшением диэлектрической проницаемости (т.е. с уменьшением полярности) среды. В полярных растворителях ( $\epsilon = 79,5-70,2$ ) амлодипин поглощает при длине волны, равной 366 нм (табл. 2). В средах с промежуточной полярностью ( $\epsilon = 54,3-40,9$ ) максимальное поглощение для Am наблюдается при 364 нм, а в неполярном гептане ( $\epsilon = 1,9$ ), моделирующем углеводородное ядро мицелл, – при 357 нм. Для солюбилизованного лекарства  $\lambda_{\text{макс}} = 364$  нм, что соответствует микроокружению промежуточной полярности, поскольку эта величина гораздо ближе к  $\lambda_{\text{макс}}$  амлодипина в 15%-м растворе PEG 400 (366 нм), нежели к  $\lambda_{\text{макс}}$  для Am в гептане. Полученные результаты позволяют заключить, что солюбилизованный амлодипин находится в непосредственной близости к поверхности углеводородного ядра в гидратированном POE-слое мицелл (по сути, лекарство адсорбировано на поверхности ядра). Этот вывод согласуется с нашими тензиометрическими измерениями для водных растворов Am ( $C_{Am} = 0-2,25 \cdot 10^{-4}$  М) на границе с воздухом, согласно которым лекарство адсорбируется на поверхности и снижает поверхностное натяжение с 72,7 до 49,6 мДж/м<sup>2</sup>. Максимальное значение адсорбции Am составляет  $3,7 \cdot 10^{-6}$  моль/м<sup>2</sup>, а площадь на молекулу в предельно заполненном слое («собственная» площадь,  $S_{\text{мин}}$ ) – 0,45 нм<sup>2</sup>.

В предположении сферической формы мицелл полученные данные о числах агрегации компонентов ( $N_i$ ) и локализации солюбилизатов позволяют оценить структурные параметры этих самоорганизованных частиц: объем ( $V_0$ ), радиус ( $R_0$ ), площадь поверхности ( $S_0$ ) гидрофобного ядра и степень ее заполнения молекулами лекарства ( $\theta = N_{Am} S_{\text{мин}} / S_0$ ), а также толщину гидратированного POE-слоя ( $h_{\text{POE}} = R_h - R_0$ ). При условии аддитивности объемов углеводородных радикалов ( $V_i$ ) ПАВ, формирующих ядро мицеллы, величина  $V_0$  определяется соотношением:

$$V_0 = \sum_i N_i \cdot V_i, \quad (10)$$

где объем радикала соответственно равен 0,32 и 0,5 нм<sup>3</sup> для GML и Tw [22].

При расчете  $\theta$  полагали, что собственная площадь молекул Am, согласно данным тензиометрических измерений, составляет ~0,45 нм<sup>2</sup>.

Рассчитанные структурные параметры исследованных мицелл приведены в табл. 1. Видно, что во

Т а б л и ц а 2

Длина волны ( $\lambda_{\text{макс}}$ ), соответствующая максимуму поглощения амлодипина, в растворителях с разной диэлектрической проницаемостью ( $\epsilon$ ) при 25°C

Растворитель	$\epsilon$ [29–31]	$\lambda_{\text{макс}}$	Степень полярности растворителя
Вода	79,5	366	полярный $\epsilon > 55$
4,6% PEG 400 в воде	78,1	366	
10% PEG 400 в воде	75,6	366	
12,5% PEG 400 в воде	74,5	366	
<b>*15% PEG 400 в воде</b>	73,3	<b>366</b>	
21,4% PEG 400 в воде	70,2	366	
30% EtOH в воде	60,1	365	
40% EtOH в воде	54,3	364	
Мицеллярный раствор Tw	–	<b>364</b>	
Мицеллярный раствор Tw с GML	–	<b>364</b>	
50% EtOH в воде	48,7	364	
55% EtOH в воде	46,0	364	
65 % EtOH в воде	40,9	364	
75 % EtOH в воде	35,9	363	
EtOH	24,5	362	неполярный $\epsilon < 20$
PEG 400	14,1	361	
<b>**Гептан</b>	1,9	<b>357</b>	

Примечания. Растворители, отмеченные символами \* и \*\* соответственно, моделируют РОЕ-слой и ядро смешанных мицелл Tw+Am и Tw+GML+Am. Значения  $\epsilon$  для водных растворов этилового спирта взяты из [29], для водных растворов PEG 400 из [30], для гептана из [31].

всех случаях значение  $R_0$  меньше длины развернутой углеводородной цепи Твин 80, которая составляет 2,3 нм [22]. Это свидетельствует о том, что углеводородные цепи солюбилизатора в мицеллах находятся в свернутом состоянии, что согласуется с литературными данными [22]. В отличие от Am солюбилизация GML приводит к заметному увеличению гидрофобного ядра и толщины гидрофильного слоя мицелл. Мицелла Tw+GML+Am имеет наибольшие размеры  $V_0$ ,  $R_0$ ,  $S_0$  и  $h_{\text{РОЕ}}$ . Если сопоставить значения  $N_{\text{Am}}$  для мицелл Tw+Am и Tw+GML+Am, то можно заметить, что присутствие 30 молекул GML в мицелле сопровождается примерно таким же увеличением числа молекул солюбилизованного лекарства (на 29 молекул). Объяснением такого совпадения может быть стерический фактор: по-видимому, солюбилизованный амлодипин располагается около полярных групп GML, размеры которых гораздо меньше, чем размеры РОЕ-цепей Твин 80.

Равновесное распределение солюбилизатора между мицеллами («псевдофаза») и окружающей их водной фазой характеризуется коэффициентом ( $K_i^m$ ), который определяется соотношением [32, 33]:

$$K_i^m = X_i^m / X_i^a, \tag{11}$$

где  $X_i^m$  и  $X_i^a$  – соответственно мольные доли солюбилизатора в мицелле и в водной фазе, содержащей неассоциированное ПАВ [33]. Величина  $X_i^a$  удовлетворительно аппроксимируется мольной долей солюбилизатора в чистой воде [33].

$$X_i^a \approx S_{iw} / C_w \approx S_{iw} / 55,43, \tag{12}$$

где  $S_{iw}$  и  $C_w$  – соответственно молярные растворимость солюбилизатора в воде и концентрация воды (при 295 К  $C_w = 55,43$  М).

Использованные для расчетов значения  $X_i^a$  приведены в примечании к табл. 3. Для мицеллы с несколькими солюбилизаторами мольная доля каждого

из них в мицелле может быть выражена следующим уравнением:

$$X_i^m = N_{\text{Sol}_i} / \sum_i N_i, \quad (13)$$

где  $N_{\text{Sol}_i}$  – число молекул солюбилизата в мицелле;  $\sum_i N_i$  – сумма чисел агрегации всех компонентов мицеллы (табл. 1).

Значения  $K_i^m$  для исследованных мицелл рассчитывали по уравнению (11) с учетом соотношений (12) и (13). Это позволяет определить стандартную энергию Гиббса солюбилизации  $\Delta G^0$  [32]:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_i^m, \quad (14)$$

где  $R$  – универсальная газовая постоянная,  $T$  – абсолютная температура (К).

Значения  $K_i^m$  и  $\Delta G^0$  для исследованных систем приведены в табл. 3. В этой же таблице для GML, имеющего углеводородную цепь, состоящую из одиннадцати  $\text{CH}_2$ -групп, представлены значения инкремента энергии Гиббса солюбилизации в расчете на метиленовую группу ( $\Delta G^0_{\text{CH}_2}$ ). При этом значения инкремента практически совпадают для двух- и трехкомпонентных мицелл (табл. 3) и хорошо согласуются со средней величиной  $\Delta G^0_{\text{CH}_2} = -2,48$  кДж/моль, приведенной в работе [32] для солюбилизации спиртов (от пропилового до гексилового) в водных растворах нескольких гомологических рядов анионных, катионных и неионогенных ПАВ. Полученное нами значение  $\Delta G^0_{\text{CH}_2}$  характерно для процесса переноса метиленовой группы из водной фазы в углеводородное ядро мицеллы [27]. Таким образом, солюбилизация

энхансера обусловлена гидрофобным эффектом [22, 34] и имеет энтропийный характер.

Значения  $\Delta G^0$  для солюбилизации амлодипина в мицеллах Твин 80 без энхансера и в мицеллах, насыщенных GML, совпадают (табл. 3). Это связано, вероятно, с тем, что присутствие полярных групп солюбилизированного энхансера не оказывает существенного влияния на состояние гидрофильного слоя мицелл, в котором локализованы солюбилизированные молекулы амлодипина. Амлодипин является дигидропиридином, способным образовывать водородные связи ( $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$ ) с оксиэтильными группами [35], которые, вероятно, и удерживают данное лекарство в РОЕ-слое мицеллы. При этом солюбилизация Ам, по-видимому, имеет энтальпийную природу  $|\Delta H^0| > |T\Delta S^0|$ .

Способность мицелл Твин 80 переносить амлодипин в водной среде оценивали с помощью диффузионной ячейки Франца и УФ-спектроскопии, при этом анализировалось влияние GML. Экспериментальные данные для 12 мМ растворов Твин 80 с солюбилизированными добавками представлены на рис. 3. Мембрана, разделяющая донорную и акцепторную части ячейки Франца, не влияет на скорость массопереноса в исследованных системах, поскольку она гидрофильна и размер ее пор более чем в 100 раз превышает размер мицелл. Следует также отметить, что концентрация лекарства в приемной среде мала, что позволяет пренебречь обратной диффузией. На рис. 3 приведены результаты расчетов по простой диффузионной модели [36] количества амлодипина,

Т а б л и ц а 3

**Мольная доля солюбилизата в мицелле ( $X_i^m$ ), коэффициент его распределения между мицеллами и водной фазой ( $K_i^m$ ), стандартная энергия Гиббса солюбилизации ( $\Delta G^0$ ), ее инкремент ( $\Delta G^0_{\text{CH}_2}$ ) для мицелл Твин 80 с разными солюбилизатами при 295 К**

Параметр	Двухкомпонентная мицелла (Tw+Sol)		Трехкомпонентная мицелла (Tw+Sol <sub>1</sub> +Sol <sub>2</sub> )	
	солюбилизат		солюбилизат 1 (Sol <sub>1</sub> )	солюбилизат 2 (Sol <sub>2</sub> )
	GML	Амлодипин	GML	Амлодипин
$X_i^m$ , м.д.	0,31	0,28	0,22	0,28
$K_i^m$	$4,75 \times 10^4$	$6,78 \times 10^4$	$3,45 \times 10^4$	$6,78 \times 10^4$
$\Delta G^0$ , кДж/моль	-26,4	-27,3	-25,6	-27,3
$\Delta G^0_{\text{CH}_2}$ , кДж/моль	-2,4	-	-2,3	-

При расчете  $K_i^m$  использованы следующие значения растворимости солюбилизата в воде ( $S_{iw}$ , М) и его мольной доли в водной фазе ( $X_i^a$ ): для Ам –  $S_{iw} = 2,30 \times 10^{-4}$  М и  $X_i^a = 4,15 \times 10^{-6}$  м. д.; для GML –  $S_{iw} = 3,60 \times 10^{-4}$  М [13] и  $X_i^a = 6,49 \times 10^{-6}$  м. д.

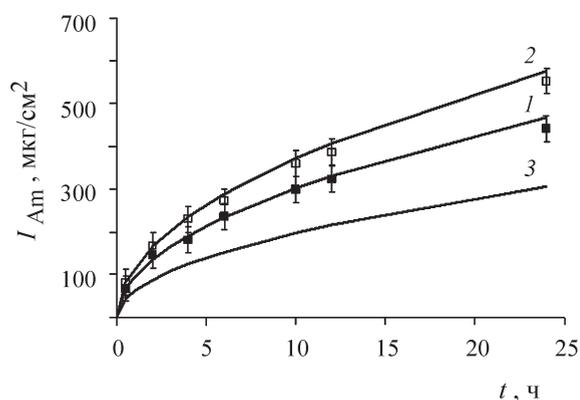


Рис. 3. Кинетика массопереноса лекарства мицеллами Tw+Am (1) и Tw+GML+Am (2), а также энхансера мицеллами Tw+GML+Am (3) в 12 мМ водных растворах солюбилизатора. Символы – эксперимент в ячейке Франца, линии – расчет по диффузионной теории

перенесенного мицеллами через мембрану, в зависимости от времени:

$$I_{Am} = 2C_{Am}(D_0/\pi)^{1/2}t^{1/2}, \quad (15)$$

где  $C_{Am}$  – концентрация амлодипина в растворе Твин 80 данной концентрации, рассчитанная на основе данных о составе мицелл (табл. 1);  $D_0$  – коэффициент диффузии мицелл, экспериментально определяемый методом DLS.

Видно (рис. 3), что экспериментальные данные и результаты расчетов хорошо согласуются. Это свидетельствует о том, что массоперенос лекарства обеспечивается диффузией мицелл НПВВ, в которых оно солюбилизовано. На рис. 3 также видно, что присутствие GML в мицеллах Твин 80 приводит к увеличению массопереноса солюбилизованного амлодипина примерно на 25%. Промотирующий эффект обусловлен тем, что мицелла Tw+GML+Am

переносит в 4,2 раза больше молекул лекарства, нежели двухкомпонентная мицелла Tw+Am (табл. 1). Этот эффект наблюдается вопреки тому, что по сравнению с двухкомпонентными мицеллами трехкомпонентные имеют большие размеры, меньшие коэффициенты диффузии, при этом их концентрация в растворе меньше, поскольку они содержат большее количество Tw (табл. 1). Так, при  $C_{Tw} = 12$  мМ концентрация мицелл – носителей лекарства в отсутствие GML составляет  $3,15 \times 10^{17}$ , а в его присутствии –  $1,09 \times 10^{17}$  мицелл/см<sup>3</sup>.

Уравнение (15) также может быть использовано для оценки диффузионного массопереноса энхансера мицеллами. При этом концентрация энхансера в растворе Твин 80 данной концентрации рассчитывается с учетом количества молекул GML в мицелле (табл. 1) и концентрации мицелл. На рис. 3 (кривая 3) для  $C_{Tw} = 12$  мМ приведено количество энхансера, которое может быть перенесено в разные моменты времени за счет диффузии трехкомпонентных мицелл (Tw+GML+Am).

Таким образом, растворимость амлодипина в исследованных мицеллярных системах возрастает с ростом концентрации Твин 80 и может превышать растворимость данного лекарства в воде на 1–2 порядка и более. Возникшие в результате солюбилизации смешанные мицеллы на основе Твин 80 являются эффективными носителями и лекарства и энхансера. Полученная информация о количестве молекул каждого компонента в мицеллах, о коэффициентах диффузии мицелл позволяет прогнозировать кинетику массопереноса лекарства и энхансера в водной среде, что может быть полезным при создании систем доставки липофильных лекарственных препаратов в биодоступной форме.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 11-08-00492-а).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Malmsten M. // Surfactants and Polymers in drug delivery. N.Y., 2002.
- Lipinski A. // Am. Pharm. Res. 2002. **19**. P. 1894.
- Shidne S. // Latest Reviews. 2007. **5**. N 6. P. 243.
- Yiyun C., Jiepin Y. // Phys. and Chem. of Liquids. 2005. **44**. N 3. P. 249.
- Rangel-Yagui C.O., Junior A.P., Tavares L.C. // J. Pharm. Pharmaceut. Sci. 2005. **8**. N 2. P. 147.
- Bhat P.A., Dar A.A., Rather G.M. // J. Chem. Eng. Data. 2008. **53**. N 6. P. 1271.
- Bhat P.A., Rather G.M., Dar A.A. // J. Phys. Chem. B. 2009. **113**. N 4. P. 997.
- Walters K.A., Hadgraft J. Eds. // Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement. N.Y., 1993.
- Шенфельд Н. Поверхностно-активные вещества на основе окиси этилена. М., 1982.
- Drug Bank database. Drug card for Amlodipine. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00381> (accessed Jul 7. 2010).
- Bos J.D., Meinardi M. M. // Exp. Dermatol. 2000. **9**. P. 165.
- Flick E.W. Emulsifying Agents: an Industrial Guide. Noyes Publication. 1990. P. 324.
- Lin Y.-C., Schlievert P.M., Anderson M.J., Fair C.L., Schaeffers M.M., Muthyala R., Peterson M.L. // Research Article available online at <http://www.plosone.org>.
- Taskovich L.T. // Pat. 4863738 USA. 1989.
- Lee E.S., Yum S.I., Cormier M.J.N. // Pat. 5629019 USA. 1997.
- Юрженко А.И. // Журнал общей химии. 1946. **16**. С. 1171.

17. *Задьмова Н.М., Ямпольская Г.П.* // Практикум по коллоидной химии. М., 2006. С. 141.
18. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.66900>
19. *Задьмова Н.М., Цикурина Н.Н., Руделев Д.С., Потешникова М.В.* // Коллоидный журн.. 2004. **66**. № 2. С. 175.
20. *Задьмова Н.М.* // Сб. статей «Структура и динамика молекулярных систем». Йошкар-Ола, Уфа, Казань, М., 2009. Вып. XVI. Ч. 2. С. 90.
21. *Kantarci G., Ozguney I., Karasulu Y., Arzik S., Guneri T.* // AAPS PharmSciTech. 2007. **8**. Iss. 4. P. 75.
22. *Русанов А.И.* Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ. СПб., 1992.
23. *Edwards D.A., Luthy R.G., Liu Z.* // Environ. Sci. Technol. 1991. **25**. P. 127.
24. *Эскин В.Е.* Рассеяние света растворами полимеров и свойства макромолекул. Л., 1986.
25. *Shick M.J.* Nonionic surfactants. N.Y., 1967. P. 569.
26. *Schott H.* // J. Colloid Sci. 1967. **24**. P. 193
27. *Мукерджи П., Кардинал Дж. Р., Десаи Н.Р.* Сб. Мицеллообразование, солубилизация и микроэмульсии. М., 1980. С. 142.
28. *Bhat P.A., Rather G.M., Dar A.A.* // J. Phys. Chem. B. 2009. **113**. P. 997.
29. *Puranic S.M., Kumbharkhane A.C., Mehrotra S.C.* // J. Mol. Liq. 1994. **59**. P.173.
30. *Mali C.S., Chavan S.D., Kanse K.S., et. all* // Indian J. Pure and Applied Physics. 2007. **45**. P. 476
31. *Sastry N.V., Valand M.K.* // J. Chem. Thermodynamics. 1998. **30**. P. 929.
32. *Høiland H., Blokhuis A.M.* // Handbook of Surface and Colloid Chemistry. 2009. Chapter 8. P. 379.
33. *Edwards D.A., Luthy R.G., Liu Z.* // Environ. Sci. Technol. 1991. **25**. P. 127.
34. *Tanford C.* The Hydrophobic Effect. New York: Wiley, 1973.
35. *Teberekides V.I., Sigalas M.P.* // J. of Molecular Structure: Theochem. 2007. **803**. P. 29.
36. *Langmuir I., Shaefer V.* // J. Amer. Chem. Soc. 1937. **59**. P. 200.

Поступила в редакцию 10.12.12

## SIMULTANEOUS SOLUBILIZATION OF LIPOPHILIC DRUG, AMLODIPINE, AND GLYCERYL MONOLAURATE IN AQUEOUS MICELLAR SOLUTIONS OF TWEEN 80

N.M. Zadymova, N.I. Ivanova

*(Division of Colloid Chemistry)*

**Solubilization and co-solubilization of lipophilic amlodipine (Am – antihypertensive drug) and glyceryl monolaurate (GML – enhancer of the skin permeability) in micelles of Tween 80 (Tw) in water medium were studied using UV-spectroscopy and refractometry. Such properties of the mixed micelles (Tw + GML, Tw + Am, Tw + GML + Am) as aggregation numbers of components, locus of solubilizates, diffusion coefficients, sizes, and hydration were investigated. The ternary micelle (Tw + GML + Am) includes in 4,2-times more molecules of drug than the two-component one. It was shown that the diffusion of mixed micelles (Tw + Am, Tw + GML + Am) defines the mass transfer of Am in aqueous solutions.**

**Key words:** *micelles of surfactant, solubilization, co-solubilization of drug and enhancer of the skin permeability, amlodipine, glyceryl monolaurate, Tween 80.*

**Сведения об авторах:** *Задьмова Наталья Михайловна* – ст. науч. сотр. кафедры коллоидной химии химического факультета МГУ, канд. хим. наук, доцент ([zadymova@colloid.chem.msu.ru](mailto:zadymova@colloid.chem.msu.ru)); *Иванова Нина Ивановна* – доцент кафедры коллоидной химии химического факультета МГУ, канд. хим. наук ([ini@colloid.chem.msu.ru](mailto:ini@colloid.chem.msu.ru)).