

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. Ломоносова
Химический факультет

На правах рукописи

Задымова Наталья Михайловна

**ЖИДКОФАЗНЫЕ ДИСПЕРСНЫЕ СИСТЕМЫ КАК ОСНОВА
МИКРОГЕТЕРОГЕННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦ
ДЛЯ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ**

Специальность 02.00.11 – коллоидная химия

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора химических наук

Москва – 2014

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	
1.1. Трансдермальная доставка лекарственных веществ	12
1.1.1. Строение кожи.....	12
1.1.2. Массоперенос веществ через кожный барьер.....	15
1.1.3. Усилители проницаемости кожи.....	20
1.1.4. Трансдермальные терапевтические системы для доставки лекарств (пластыри).....	26
1.2. Основные факторы устойчивости обратных вода/масло и двойных масло₁/вода/масло₂ эмульсий и перспективы их применения для трансдермальной доставки лекарств	38
Глава 2. МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Методы исследования	50
2.1.1. УФ-спектроскопия.....	50
2.1.2. Рефрактометрия.....	51
2.1.3. Динамическое рассеяние света.....	52
2.1.4. Статическое рассеяние света.....	52
2.1.5. Дисперсионный анализ.....	54
2.1.6. Оптическая микроскопия.....	55
2.1.7. Атомно-силовая микроскопия.....	55
2.1.8. Сканирующая электронная микроскопия.....	55
2.1.9. Тензиометрия.....	56
2.1.10. Реологические методы.....	57
2.1.11. Прецизионная турбидиметрия.....	58
2.1.12. Определение массопереноса целевых компонентов через мембраны и кожу человека (in vitro).....	60
2.1.13. Определение ферментативной активности белка.....	63
2.1.14. Методики получения эмульсий и полимерных матриц.....	65
2.2. Объекты исследования	67
2.2.1. Липофильные лекарства.....	67

2.2.2.	Глобулярный белок лизоцим.....	68
2.2.3.	Неионогенные поверхностно-активные вещества	70
2.2.4.	Лимонен.....	72
2.2.5.	Полимеры.....	72
Глава 3. МИЦЕЛЛЫ НЕИОНОГЕННЫХ ПАВ КАК НОСИТЕЛИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВ В ВОДНОЙ СРЕДЕ		
3.1.	Солюбилизация липофильных лекарств в водных мицеллярных растворах неионогенных ПАВ (обзор).....	75
3.2.	Свойства двух- и трехкомпонентных мицелл Твин 80 с солюбилизированными лекарством и усилителем проницаемости кожи.....	77
Глава 4. ПРЯМЫЕ МИКРОЭМУЛЬСИИ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НОСИТЕЛИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВ		
4.1.	Микроэмульсионные системы для трансдермального применения (обзор).....	95
4.2.	Прямые микроэмульсии на основе лимонена (УП кожи) с инкорпорированным фелодипином.....	105
4.3.	Прямые микроэмульсии на основе изопропилмиристата (УП кожи) с инкорпорированным амлодипином.....	113
Глава 5. МИНИЭМУЛЬСИИ МАСЛО/ВОДА С ИНКОРПОРИРОВАННЫМИ ЛЕКАРСТВАМИ		
5.1.	Роль оствальдова созревания в устойчивости миниэмульсий углеводород/вода (обзор).....	120
5.2.	Ингибирование оствальдова созревания – ключевого механизма дестабилизации миниэмульсий гептан/вода.....	125
5.3.	Получение стабильных миниэмульсий гептан/вода с иммобилизованным лекарством (фелодипином, амлодипином).....	140
Глава 6. РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РАСТВОРОВ ПОЛИМЕРНЫХ АДГЕЗИВОВ В НЕПОЛЯРНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ		
6.1.	Реологические свойства растворов полиизобутилена	

	в гептане.....	146
6.2.	Реологические свойства растворов полиакрилата в этилацетате.....	154
Глава 7. ЭМУЛЬСИИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ, СОДЕРЖАЩИЕ КОМПОНЕНТЫ ТРАНСДЕРМАЛЬНЫХ СИСТЕМ, КАК ОСНОВА ПОЛИМЕРНЫХ АДГЕЗИВНЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВ		
7.1.	Обратные эмульсии на основе мицеллярных систем и растворов липофильных полимеров – премиксы полимерных матриц.....	160
7.1.1.	Эмульсии и пленки на основе полиизобутилена для доставки фелодипина.....	161
7.1.2.	Эмульсии и пленки на основе акрилового полимера для доставки амлодипина.....	163
7.2.	Эмульсии на основе прямых микроэмульсий с лекарством и растворов липофильного полимера как премиксы полимерных матриц.....	166
7.2.1.	Эмульгированные микроэмульсии и пленки на основе полиизобутилена для доставки фелодипина.....	167
7.2.2.	Эмульгированные микроэмульсии и пленки на основе акрилового полимера для доставки амлодипина.....	170
7.3.	Двойные эмульсии масло₁/вода/масло₂, содержащие полимерный адгезив, и матрицы на их основе для доставки липофильных лекарств.....	175
7.3.1.	Двойные эмульсии масло ₁ /вода/масло ₂ на основе полиизобутиленов и пленки для доставки фелодипина.....	176
7.3.2.	Двойные эмульсии масло ₁ /вода/масло ₂ на основе полиакрилатов и пленки для доставки амлодипина.....	189
Глава 8. БАКТЕРИЦИДНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МАТРИЦЫ С ГИДРОФИЛЬНЫМ БЕЛКОМ ЛИЗОЦИМОМ НА ОСНОВЕ ЭМУЛЬСИЙ		

8.1.	Прямые эмульсии и полимерные матрицы с лизоцимом.....	206
8.2.	Двойные эмульсии масло₁/вода/масло₂ и полимерные матрицы с лизоцимом.....	223
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ и ВЫВОДЫ.....	230
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	236

ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых лекарственных форм, повышающих биодоступность и эффективность действия уже имеющихся лекарств (Лк), – альтернатива внедрению новых препаратов, позволяющая существенно сократить сроки и расходы, приобрела в последние десятилетия несомненную практическую и научную значимость.

К новым эффективным лекарственным формам принадлежат трансдермальные пластыри (ТП), способные обеспечить контролируемое поступление Лк через кожу в кровотоки с терапевтически оптимальной скоростью в течение длительного времени (от 1 до 7 суток) [1, 2]. Использование ТП безболезненно и удобно, исключает потери, сопряженные с метаболизмом в желудочно-кишечном тракте и печени, позволяет варьировать дозы и прекращать лечение в любой момент [3–8]. Применение ТП снижает риск побочных эффектов как следствие нивелирования скачков концентрации Лк в крови. Для пациентов с хроническими заболеваниями, нуждающихся в постоянном и многократном пероральном применении Лк, и особенно для страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта и печени, трансдермальная терапия особенно показана. В ряде случаев, когда пациент страдает склерозом, находится без сознания или у него нарушены жизненно важные функции (например, отсутствует способность дышать и глотать самостоятельно), трансдермальная доставка Лк является хорошей и иногда единственной альтернативой.

Ключевой проблемой трансдермальной доставки (ТД) являются трудности при проникновении Лк через кожу, имеющую сложное полислойное строение. Каждый слой кожи (эпидермис, дерма, гиподерма) характеризуется своеобразной сложной морфологией и различной полярностью. Верхний слой эпидермиса (роговой) является гидрофобным, по мере продвижения в глубинные слои кожи содержание воды, а значит и гидрофильность, возрастают. В эпидермисе нет кровеносных капилляров, поэтому при трансдермальной доставке Лк обязательно должно поступить в дерму, где они имеются.

В большинстве случаев главной составной частью ТП является полимерная пленка (матрица), содержащая Лк в молекулярной (реже диспергированной) форме, усилитель проницаемости кожи (УП) и полимер (адгезив), обеспечивающий

хорошую адгезию к ее поверхности. Как правило, такие полимерные матрицы получают на основе расплавов или растворов, когда Лк и адгезив присутствуют в одной и той же фазе (обычно липофильной). Такие ТП подходят для препаратов с оптимальным гидрофильно-липофильным балансом и неэффективны для липофильных Лк с низкой растворимостью в воде, диффузионный массоперенос которых в глубинные слои кожи («живой» эпидермис и гидрофильную дерму, в которой расположены кровеносные капилляры) затруднен, что снижает биодоступность препаратов.

Липофильные Лк преобладают в фармакологии и медицине, но проблема их низкой биодоступности в настоящее время далека от решения и требует новых научно-обоснованных подходов. Трансдермальные пластыри, в которых полимерная матрица содержит жидкие микродомены с лекарством (микрорезервуарный тип), считаются наиболее перспективными для доставки липофильных Лк в биодоступной форме [9]. Такие матрицы визуально однородны (микродомены видны только под микроскопом), компактны, удобны, безопасны, расширяют круг трансдермально доставляемых Лк, позволяют инкорпорировать целевые компоненты различной полярности. Пластыри микрорезервуарного типа даже можно разрезать с целью уменьшения дозы Лк [9]. Это их несомненные преимущества по сравнению с громоздкими трансдермальными системами резервуарного типа, в которых лекарство в виде раствора или геля находится в резервуаре, отделенном проницаемой мембраной, и для которых известны случаи недопустимых передозировок. В настоящее время насчитывается лишь несколько исследований, посвященных ТП микрорезервуарного типа, когда в гидрофобную полимерную матрицу инкорпорируют микродомены, представляющие собой жидкое Лк или его раствор в органическом растворителе, способном усиливать проницаемость кожи [10–12]. Разработки основаны на эмульгировании, причем Лк и полимерный адгезив находятся в разных фазах. Однако содержание в матрице органических растворителей может вызывать раздражение и аллергические реакции кожи.

Применение белков, обладающих бактерицидным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием, в качестве лекарственных веществ вызывает повышенный интерес в последние годы. Сохранение ферментативной активности –

одна из основных задач при их практическом использовании. Высокая молекулярная масса белков исключает возможность трансдермального массопереноса за счет пассивной диффузии. Вместе с тем, создание полимерных матриц для доставки важных в терапевтическом отношении белков к поверхности кожного покрова с сохранением их ферментативной активности является актуальной задачей, решение которой должно базироваться на фундаментальных исследованиях в области коллоидной химии.

Мотивацией данного исследования послужила гипотеза о перспективности разработки гетерогенных адгезивных липофильных полимерных матриц с микродоменами на водной основе, поскольку вода является эффективным и безопасным УП кожи, а также одним из основных компонентов организма человека. Подобные матрицы для доставки лекарств могут быть универсальными. Гидрофильные Лк можно растворять в водных доменах, а липофильные Лк инкорпорировать в самоорганизованные в водной среде коллоидные структуры (мицеллы ПАВ, микроэмульсии, ниосомы, везикулы и т.п.), что повысит их биодоступность. Если же в микродомены ввести гидрофильные белки, обладающие ценными терапевтическими качествами, но большой молекулярной массой, исключающей трансдермальный массоперенос, то полимерные матрицы с такой уникальной морфологией могут быть полезны при накожном применении, например, как бактерицидные или противовоспалительные.

Предполагается, что выдвинутая гипотеза может быть реализована на основе эмульсий различного типа (обратных (вода/масло, В/М), прямых (масло/вода, М/В), двойных (масло₁/вода/масло₂, М₁/В/М₂), водная фаза которых содержит самоорганизованные супрамолекулярные структуры неионогенных ПАВ (НПАВ). Эти эмульсии должны послужить основой микрогетерогенных полимерных матриц. Главными проблемами применения жидкофазных дисперсных систем, которые могут быть как структурно самоорганизованными и термодинамически устойчивыми (мицеллярные растворы, микроэмульсии, т. п.), так и термодинамически неустойчивыми, требующими целенаправленной стабилизации (миниэмульсии и эмульсии различного типа), является недостаточная изученность многих вопросов, связанных с условиями образования, стабильности и целевыми свойствами. Особенно это касается дисперсных систем, содержащих необходимые

для трансдермальной доставки компоненты: лекарство, усилитель проницаемости кожи, полимер, обеспечивающий адгезию, и стабилизаторы.

Разрабатываемые эмульсии должны удовлетворять следующим условиям:

1. Сохранять стабильность как минимум в течение нескольких суток, чтобы обеспечивать качество получаемых полимерных матриц,
2. Обладать пленкообразующими свойствами,
3. Содержать легколетучие неполярные растворители, чтобы гарантировать их отсутствие в матрицах после сушки,
4. Включать необходимые для трансдермальной доставки компоненты (Лк, УП кожи, полимерный адгезив, стабилизаторы), одобренные для медицинского применения.

Реализация данной гипотезы предполагает изучение ряда коллоидно-химических вопросов, которые представляют самостоятельный научный интерес, но до настоящего времени остаются неразрешенными:

- Отсутствуют экспериментальные и теоретические подходы к комплексному изучению свойств мицелл НП АВ с солюбилизированными Лк и УП, а значит и необходимая для прогнозирования композиционных составов информация о свойствах таких 3-х компонентных мицелл (солюбилизационной емкости, числах агрегации компонентов, коэффициентах диффузии, размерах, степени гидратации, локализации Лк и способности транспортировать Лк в водной среде),
- Проблема получения макроскопически однородных прямых микроэмульсий (IV тип по классификации Винзора), да еще и с пониженным содержанием стабилизирующих НП АВ (что необходимо во избежание негативных кожных реакций), остается открытой,
- Не оценивалась возможность инкорпорирования микроэмульсий (МЭ) в растворы липофильных полимеров, то есть получения «эмульгированных МЭ»,
- Не разработаны подходы к ингибированию оствальдова созревания (ОС) в субмикронных эмульсиях М/В на основе легколетучих углеводородов (например, гептана), которые быстро разрушаются именно по механизму ОС и получение которых должно стать первой стадией получения разрабатываемых эмульсий $M_1/V/M_2$,

- Не обоснованы коллоидно-химические приемы стабилизации эмульсий с липофильной дисперсионной средой (т.е. В/М и $M_1/V/M_2$), в которой не действуют классические факторы устойчивости дисперсных систем (электростатическая составляющая расклинивающего давления, структурно-механический барьер по Ребиндеру и т.п.), особенно это касается двойных эмульсий (ДЭ), стабилизация которых предполагает присутствие гидрофильных и липофильных стабилизаторов, конкурирующее действие которых, а также процессы массопереноса, могут ускорять деградацию ДЭ,
- Не изучалось влияние типа эмульсий на структурные особенности полученных на их основе полимерных матриц, от которых зависят целевые характеристики трансдермального массопереноса Лк (постоянство терапевтически обоснованной скорости, продолжительность выделения, отсутствие кристаллизации Лк и негативных кожных реакций).

Цель работы – создание коллоидно-химических основ получения микрогетерогенных полимерных матриц для трансдермальной доставки липофильных Лк, а также для доставки к поверхности кожи гидрофильных белков без потери ферментативной активности, исходя из детального анализа механизмов стабилизации и свойств жидкофазных дисперсных систем различной морфологии в качестве базы матриц с использованием широкого круга физико-химических методов.

Для достижения ключевой цели необходимо было решить следующие конкретные **задачи**:

1. Разработать экспериментальные и теоретические подходы для оценки способности мицелл НПАВ служить в качестве эффективных носителей липофильных лекарства и УП кожи в водной среде, базирующиеся на изучении свойств мицелл (НПАВ+Лк, НПАВ+УП, НПАВ+УП+Лк), для применения водных мицеллярных растворов НПАВ с солюбилизированными целевыми компонентами в качестве дисперсной фазы обратных эмульсий и водной прослойки двойных эмульсий $M_1/V/M_2$;
2. Получить макроскопически однофазные прямые микроэмульсии с пониженным содержанием НПАВ (во избежание раздражения кожи), обладающие большой солюбилизационной емкостью по отношению к липофильному Лк, все

компоненты которых являются нетоксичными, биосовместимыми и способными увеличивать проницаемость кожи, исследовать эффективность МЭ при мембранном и трансдермальном массопереносе Лк. Использовать эти микроэмульсии в качестве дисперсной фазы при разработке эмульгированных МЭ – основе полимерных матриц;

3. На модельных субмикронных эмульсиях гептан/вода с низким содержанием дисперсной фазы определить механизмы ингибирования оствальдова созревания с целью получения стабильных высококонцентрированных миниэмульсий, пригодных для инкорпорирования липофильных Лк и гидрофильных терапевтически важных белков. Это первая стадия получения ДЭ;

4. Оптимизировать составы дисперсионных сред разрабатываемых обратных и двойных эмульсий на основе комплексного исследования реологических свойств растворов липофильных полимеров (адгезивов) в соответствующих неполярных растворителях;

5. Установить факторы агрегативной устойчивости обратных и двойных эмульсий, содержащих обязательные компоненты трансдермальных систем, на основе комплексного подхода с использованием тензиометрии, динамического рассеяния света, оптической микроскопии и реологических методов, получить ДЭ в стабильном состоянии, изучить их свойства и использовать в качестве базиса микрогетерогенных полимерных матриц для трансдермальной доставки липофильных Лк;

6. Установить взаимосвязь типа эмульсий, структурной организации полученных на их основе полимерных матриц и особенностей выделения бактерицидного белка с сохранением его ферментативной активности.

Данный подход является новым.

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Трансдермальная доставка лекарственных веществ

Нанесение различных веществ на кожу в виде примочек, мазей, кремов, гелей, паст для косметических и лечебных целей человечество использует в течение тысячелетий. Такое применение, как правило, сопровождается аккумулярованием активного компонента на поверхности кожи или в ее верхних слоях и обеспечивает лишь локальный местный эффект. Во второй половине XX-века возникла идея трансдермального способа лечения, когда Лк проникает через неповрежденную кожу, поступает в системный кровоток и, далее, к целевому органу [1, 2]. В настоящее время в качестве трансдермальных средств используются гели, мази, эмульсии и трансдермальные пластыри. Лишь ТП способны обеспечить контролируемую скорость поступления Лк и целевую постоянную его концентрацию в плазме крови в течение длительного времени (от 1 до 7 сут) [1, 2]. Применение ТП имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными способами лечения (пероральный, инъекционный и т.п.), эти преимущества обсуждались во введении. Пластыри иногда называют трансдермальными терапевтическими системами (ТТС) доставки Лк.

1.1.1. *Строение кожи*

Создание эффективных средств трансдермальной доставки лекарственных препаратов базируется на анализе строения и физиологических функций кожи. Кожа является самым большим и наиболее доступным органом человеческого тела. Площадь поверхности кожи взрослого человека в среднем достигает $\approx 2 \text{ м}^2$, в ней аккумуляровано до одной трети циркулирующей в теле крови [8, 13]. Неповрежденная кожа выполняет защитные функции, направленные на поддержание постоянства биохимического состава и гомеостаза организма в целом, препятствуя негативному влиянию окружающей среды [14, 15]. Она имеет сложное морфологическое строение, состоит из эпидермиса, дермы, под которой находится гиподерма (подкожная клетчатка) [14–17]. Кожу пронизывают волосные фолликулы, потовые и сальные железы. Схематическое изображение поперечного сечения кожи человека, отражающее ее строение, приведено на рис. 1.

Поверхностный слой эпидермиса называют роговым (Stratum Corneum, SC), он состоит из 15–25 рядов омертвевших безъядерных клеток – корнеоцитов (роговых пластинок толщиной 0.5 мкм [17]), которые в основном содержат нерастворимый белок кератин. Межклеточное пространство SC представляет собой матрицу ламеллярного строения, т.е. чередующиеся бислои липидов и прослойки воды (10–15 масс. %) [18, 19]. Липидный состав SC является уникальным, поскольку не содержит фосфолипидов, а включает церамиды, длинноцепочечные жирные кислоты и холестерин [20]. Рис. 2 схематично отражает строение SC [19]. Плотная упаковка бислоев липидов обеспечивается водородными связями.

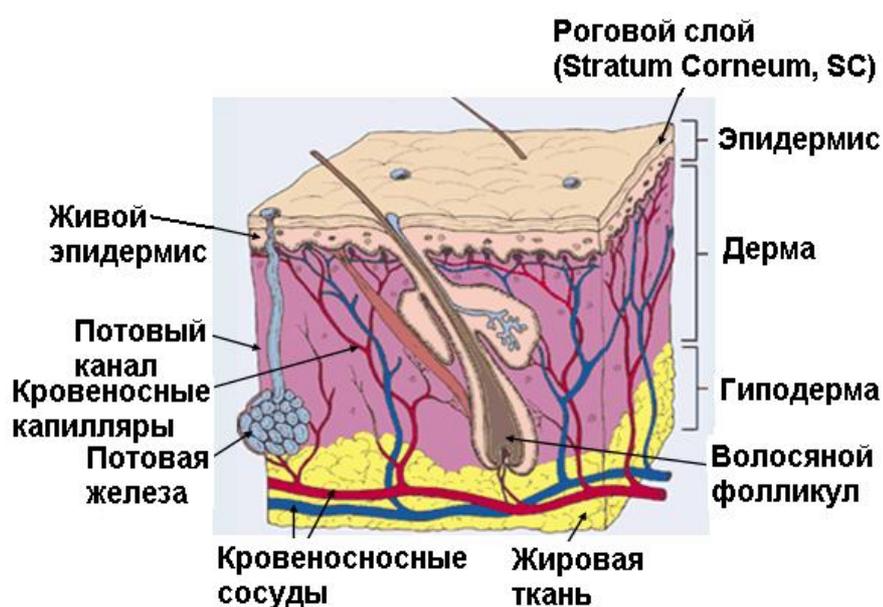


Рис. 1. Схематическое строение кожи человека [16].

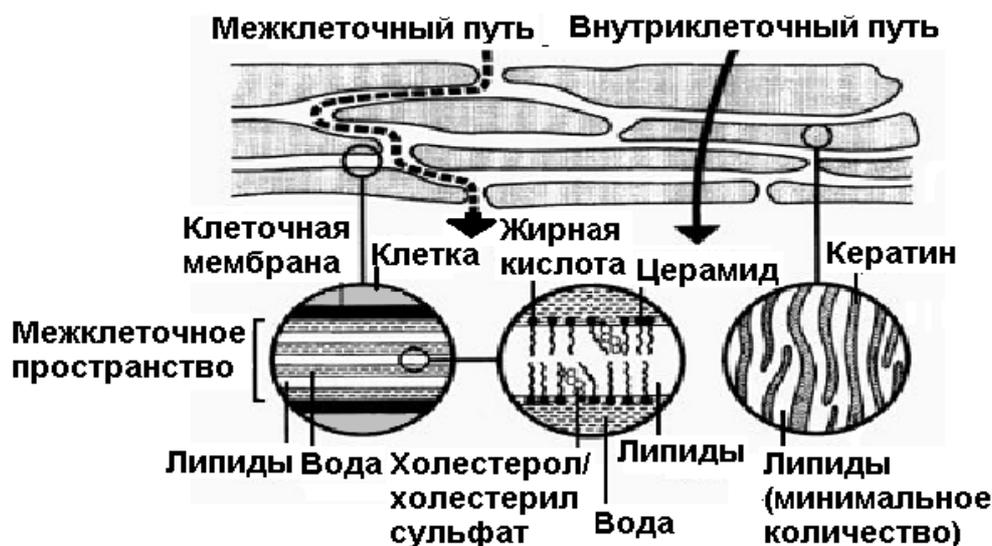


Рис. 2. Схематическое изображение рогового слоя (SC) эпидермиса кожи человека [19].

Липофильный роговой слой, несмотря на ничтожную толщину ($\approx 10\text{--}20$ мкм [17]), в основном определяет барьерные функции кожи. Ороговевшие клетки отшелушиваются, при этом процесс полной регенерации эпидермиса длится 3–4 недели.

Под SC находится «живой» эпидермис, основными клетками которого являются кератиноциты, и который состоит из нескольких слоев (блестящего, зернистого, шиповатого и базального), различающихся стадиями развития кератиноцитов. Базальный слой, связанный с базальной мембраной, содержит зародышевые клетки. Отрыв такой клетки от базальной мембраны инициирует синтез белка кератина, который по мере продвижения кератиноцита вверх к поверхности кожи заполняет всю цитоплазму [21]. Это приводит к потере ядра и превращению кератиноцита в корнеоцит – основу SC. Толщина «живого» эпидермиса составляет примерно 100–120 мкм [15], содержание в нем воды уменьшается при переходе от глубоких слоев ($\approx 70\%$) к поверхности ($\approx 20\%$) [22, 23]. Живой эпидермис содержит ферменты, метаболизирующие некоторые вещества.

Дерма, расположенная под эпидермисом (рис. 1), представляет собой соединительную ткань, основу которой составляют структурные белки: коллаген,

эластин и ретикулин [23]. Доминирующим белком является коллаген (≈ 70 % от сухого веса). Пространство вокруг белковой сетчатой структуры заполнено вязким гидрогелем, дисперсная фаза которого состоит из мукополисахаридов (гликозаминогликанов) [24]. Содержание воды в дерме составляет 60–80 % [23], а толщина – 1200–4000 мкм (в зависимости от локализации на теле) [25]. В отличие от эпидермиса, который не содержит кровеносных сосудов, дерма пронизана капиллярной сеткой кровеносных и лимфатических сосудов [15]. Поэтому трансдермальная доставка Лк невозможна без их проникновения в дерму.

Под дермой располагается гиподерма, состоящая из жировой ткани, в которой располагаются крупные кровеносные сосуды, а также основания волосяных фолликул и потовых желез [15] (рис. 1).

1.1.2. *Массоперенос веществ через кожный барьер*

Ключевой проблемой трансдермальной доставки являются трудности при проникновении Лк через кожу. На основании информации о строении кожного покрова можно заключить, что трансдермальная доставка будет эффективной при условии, что Лк, преодолев эпидермис, поступит в достаточном количестве в дерму, где расположены капилляры кровеносных сосудов. В работах [13, 19, 26] обсуждаются возможные пути проникновения Лк (рис. 3): 1) трансфолликулярный (через волосяные фолликулы, потовые и сальные железы), 2) внутриклеточный (последовательно через клетки и прослойки липидной матрицы) и 3) межклеточный (через межклеточное пространство – липидную матрицу).

Через волосяные фолликулы, потовые и сальные железы, на долю которых приходится ~ 0.1 –1 % площади поверхности кожи, проникает незначительное количество вещества [27]. Трансфолликулярный путь может приобретать значимость лишь для достаточно крупных молекул [28] или при использовании специальных технологий усиления проницаемости кожи (ионофорез, электропорация, магнитофорез и т.п.) [23, 29, 30]. Клетки корнеоцитов оказываются практически непреодолимым барьером для большинства веществ [31], за исключением молекул воды и короткоцепочечных спиртов [32, 33]. Наиболее вероятным и реализуемым является проникновение Лк через межклеточное пространство [13, 19, 26, 32–35] (см. рис. 3 [34, 35]).

Очевидно, что диффузия гидрофильных Лк через межклеточное пространство рогового слоя, то есть через структурированную липофильную липидную матрицу (рис. 2), содержащую лишь незначительное количество воды, затруднена и лимитирует скорость трансдермального проникновения. Для очень гидрофобных лекарств, для которых транспорт через липофильное межклеточное пространство SC не вызывает затруднений, лимитирующей стадией процесса оказывается диффузия в гидратированные нижние слои эпидермиса и гидрофильную дерму [32]. Такие гидрофобные Лк накапливаются в роговом слое и не могут достичь кровеносных сосудов, что заметно понижает их биодоступность.

Таким образом, через кожу способны проникать не все Лк, а лишь сочетающие липофильные и гидрофильные свойства. Степень дифильности вещества, как известно [36, 37], характеризует коэффициент распределения, который равен отношению его концентраций в масляной (октанол) и в водной несмешивающихся фазах в условиях равновесия ($P_{o/w} = C_o/C_w$). Этот параметр необходимо учитывать при подборе оптимальных Лк для трансдермального применения.

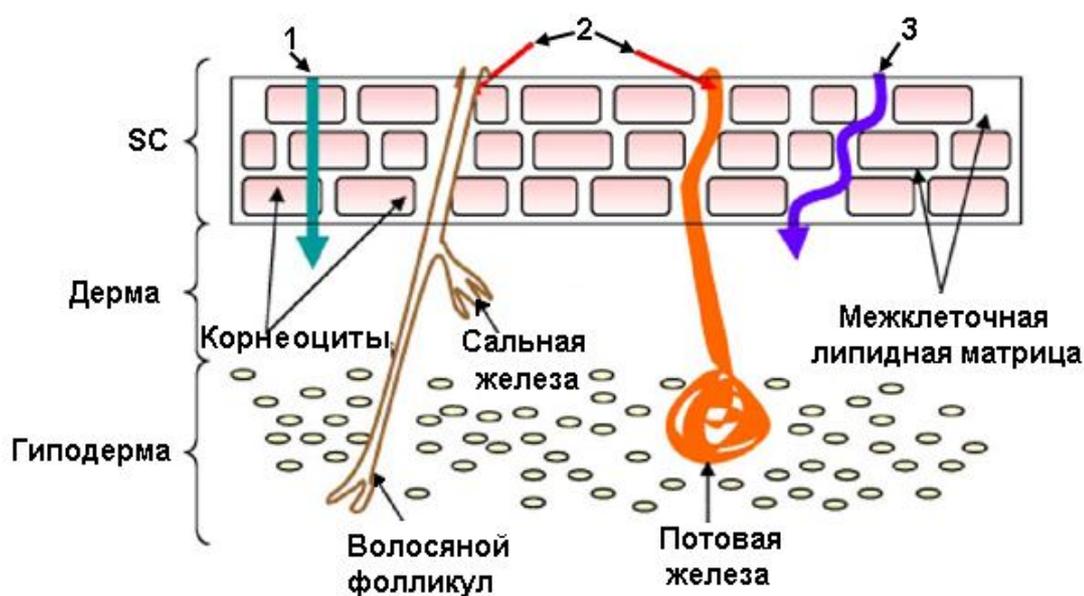


Рис. 3. Вероятные пути проникновения лекарства через кожу [34, 35]. Пояснения в тексте.

Трансдермальный массоперенос, независимо от типа трансдермальной системы (ТС: гель, раствор, эмульсия, пластырь), характеризуется количеством вещества, прошедшего через единицу площади поверхности кожи (Q) за единицу времени, то есть потоком (J , $\text{г}\cdot\text{см}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$):

$$J = \partial Q / \partial t = (\partial m / \partial t) / A_s, \quad (1)$$

где $Q = m / A_s$, m – количество вещества, A_s – площадь, через которую идет массоперенос, t – время.

Кинетика массопереноса $Q(t)$ различных веществ через кожу в основном определяется в опытах *in vitro* с использованием диффузионных ячеек [38, 39], состоящих, как правило, из 2-х частей (донорной и акцепторной), разделенных мембраной, в качестве которой используют кожу животных (мышей, крыс, свиней, обезьян) или умершего человека. Жидкие ТС помещают в донорную часть, а ТП наклеивают непосредственно на поверхность кожи со стороны донорной части ячейки. В акцепторную часть помещают приемную среду, в которой хорошо растворяется исследуемое Лк. Методами спектрофотометрии, жидкостной хроматографии или радиоактивных индикаторов тестируют содержание Лк в приемной среде, а в ряде случаев и в донорной.

В простейшем случае, когда наблюдается линейная зависимость $Q(t)$, исходящая из начала координат, поток Лк постоянен (уравнение 1), что позволяет использовать первый закон Фика для стационарной диффузии [32, 40–42]:

$$J = (\partial m / \partial t) / A_s = -D(\partial C / \partial x), \quad (2)$$

где D – коэффициент диффузии ($\text{см}^2/\text{с}$); $\partial C / \partial x$ – градиент концентрации по расстоянию; знак минус отражает массоперенос вещества в направлении, соответствующем уменьшению концентрации (т.е. уменьшению химического потенциала).

Наиболее простое модельное приближение рассматривает кожу как инертную гомогенную мембрану, на верхней (обращенной к ТС) стороне которой концентрация лекарства очень велика, а на ее нижней стороне – пренебрежимо мала. Это позволяет записать уравнение 2 так [32, 40–42]:

$$J = -D(\partial C / \partial x) \approx DC_0/h \approx DKC_{\text{ТС}}/h, \quad (3)$$

где C_0 и C_{TC} – соответственно концентрации Лк на поверхности мембраны и в ТС; $K = C_0/C_{TC}$ – коэффициент распределения диффундирующего вещества между мембраной (кожей) и ТС; h – толщина мембраны.

Как отмечалось выше, массоперенос вещества происходит в межклеточном пространстве эпидермиса (рис. 3), что заметно увеличивает диффузионный путь по сравнению с толщиной h , кроме того, значения K и D трудно, а подчас и невозможно определить. Поэтому перечисленные параметры принято объединять [40–42]:

$$P_0 = KD/h, \quad (4)$$

где P_0 – коэффициент проницаемости, имеющий размерность скорости (см/ч).

Совместное решение уравнений 3 и 4 приводит к соотношению:

$$J = P_0 C_{TC}. \quad (5)$$

Следует отметить, что для многих ТС (особенно пластырей) постоянная скорость массопереноса Лк через кожу устанавливается лишь после некоторого времени τ^* , которое называют индукционным периодом. На рис. 4 (кривая 2) представлена типичная зависимость $Q(t)$, трансформирующая со временем в линейную. В работе [40] на основе второго закона Фика $\partial C/\partial t = D(\partial^2 C/\partial x^2)$ при идеализированных граничных условиях (кожа – гомогенная инертная мембрана) и $t \rightarrow \infty$ получено уравнение, хорошо описывающее такие зависимости $Q(t)$, характеризующие псевдостационарное поведение:

$$Q \approx (DC_0/h)(t - h^2/(6D)) \approx (DC_0/h)(t - \tau^*), \quad (6)$$

где $\tau^* = h^2/(6D)$.

Поскольку $C_0 = KC_{TC}$, дифференцирование уравнения 6 по времени, а также учет уравнения 4 приводят к соотношению:

$$dQ/dt = J \approx DC_0/h \approx DKC_{TC}/h \approx P_0 C_{TC}. \quad (7)$$

Поток лекарства J (в условиях псевдостационарного течения) определяется как тангенс угла наклона линейного участка кинетической кривой $Q(t)$ (рис. 4), а при экстраполяции этого линейного участка на оси абсцисс отсекается отрезок, который соответствует индукционному периоду τ^* .

Таким образом, поскольку концентрация Лк в ТС, как правило, известна, экспериментальные зависимости $Q(t)$, соответствующие стационарным или псевдостационарным условиям, используются для определения коэффициентов

проницаемости кожи различными веществами (см. уравнение 7). В настоящее время наиболее обширная база данных примерно для 100 веществ (в том числе и некоторых Лк) собрана Флином [43]. Она включает литературные данные (15 источников), полученные в кинетических опытах *in vitro* через кожу человека, и содержит не только значения P_o , но и данные о физико-химических параметрах веществ. В результате статистического анализа этой базы данных в работах [44, 45] получены трехпараметрические уравнения, позволяющие прогнозировать значения коэффициентов проницаемости веществ на основе их молекулярной массы M_w и степени липофильности ($lgP_{o/w}$). Так, в [44] для органических веществ было предложено уравнение:

$$lg P_o = -2.61 + 0.67lgP_{o/w} - 0.0061 M_w. \quad (8)$$

Однако следует отметить, что для суммированных в [43] результатов источником диффундирующего через кожу вещества был его насыщенный водный раствор или раствор в этаноле. Поэтому точность прогнозирования эффективности трансдермального проникновения Лк на основе эмпирических данных [43] невелика для носителей Лк различного типа, в частности, для пластырей. Неопределенность прогнозов усугубляется тем, что проницаемость кожи зависит от ее месторасположения на теле, пола человека, его возраста, и расы.

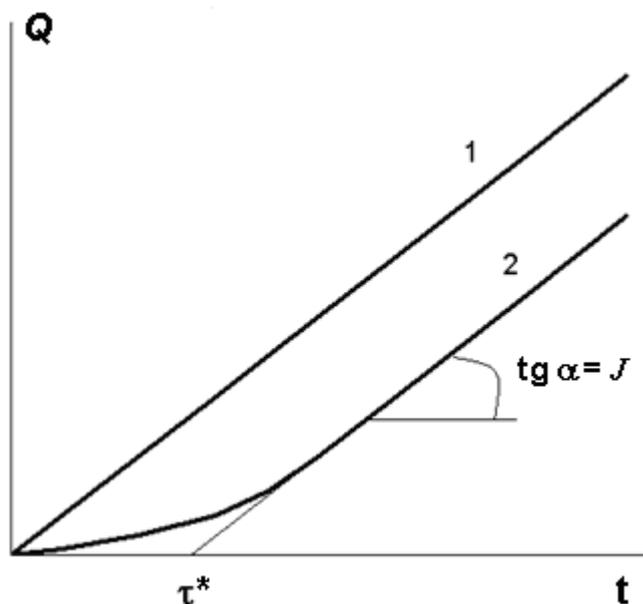


Рис. 4. Кинетика диффузионного массопереноса Лк: 1 – стационарный поток; 2 – квазистационарный поток; τ^* – индукционный период.

Диффузионная модель трансдермального массопереноса, более детально учитывающая гетерогенное строение кожи, предложена в работе [46]. Кожа при этом рассматривается как бислойная мембрана, состоящая из липофильного (SC) и гидрофильного слоев, для которых характерны соответствующие коэффициенты диффузии (D_{SC} и D_w) и диффузионные расстояния (h_{SC} и h_w). Учитывается и влияние коэффициента распределения Лк между слоями мембраны ($K_{SC/w}$). На основе второго закона Фика в рамках данного подхода [46] получено уравнение для расчета τ^* , в которое входят все перечисленные выше параметры. Однако следует отметить, что значения D_{SC} , D_w , h_{SC} , h_w и $K_{SC/w}$ могут быть определены лишь с точностью до порядка величины.

На основании изложенного выше можно заключить, что физико-химические свойства Лк (масса, размер и гидрофильно-липофильный баланс (ГЛБ) молекул) оказывают существенное влияние на его способность проникать через кожу. В ряде работ [3, 20, 33, 47, 48] сформулированы свойства Лк, оптимального для трансдермальной доставки:

- дифильность, характеризующаяся промежуточными значениями $lgP_{o/w}$ (от ~ 1 до 2–3),
- $M_w < \approx 500$ Да,
- электронейтральность,
- низкая биодоступность при пероральном применении вследствие метаболизма в желудочно-кишечном тракте и в печени,
- избирательность и высокая эффективность системного действия, малая суточная доза (< 10 мг);
- отсутствие негативного влияния на кожу.

1.1.3. Усилители проницаемости кожи

Трансдермальный массоперенос осуществляется за счет пассивной диффузии Лк (см. уравнения 3, 5 и 7), поэтому его можно интенсифицировать при повышении концентрации Лк в ТС, а также увеличения проницаемости SC, для чего используют вещества, обратимо модифицирующие структуру рогового слоя и, как следствие, ослабляющие его барьерную функцию [47, 49]. Такие вещества называют усилителями проницаемости кожи.

В обзорных статьях [50–60] предложены различные классификации УП, как правило, в соответствии со строением их функциональных групп. На основе анализа литературных данных [50, 52, 55–60] нами составлена табл. 1, которая включает наиболее часто встречающиеся типы УП кожи. Для некоторых дифильных веществ в этой таблицы приведены значения ГЛБ, характеризующего степень их липофильности [61, 62]. Следует отметить, что в данном обзоре ионогенные поверхностно-активные вещества, несмотря на их способность эффективно увеличивать проницаемость кожи (например, анионный додецилсульфат натрия и катионный бромид цетилтриметиламмония), исключены из рассмотрения, поскольку вызывают раздражение кожи [54, 57].

Повышение проницаемости кожи под действием УП в основном определяется модифицированием структуры SC [32, 47, 49]:

- за счет дезорганизации межклеточной высокоупорядоченной матрицы вследствие разжижения липидных бислоев при внедрении в них УП, либо при растворении и экстракции липидных компонентов,
- за счет взаимодействия с внутриклеточными белками, приводящего к набуханию или даже деструкции корнеоцитов.

В работах [51, 52, 54, 55, 63] каждому типу химических УП приписывается определенный механизм действия. Воду, например, выделяют как наиболее доступный и безопасный тип УП [47, 49, 51, 54, 55]. Увеличение гидратации SC (присутствие гидратирующего агента, окклюзия под действием водонепроницаемых повязок, мазей, пластырей [55, 64]), приводит к росту объема водных прослоек между бислоями липидов и набуханию кератина в корнеоцитах. Это вызывает разупорядочение ламеллярной межклеточной структуры SC, сопровождающееся повышением ее проницаемости относительно гидрофильных и гидрофобных Лк [47, 49, 51, 54, 55]. Терпены же легко проникают в кожу, «разжижают» липидные бислои и заполняют образованные в них микрополости, увеличивая диффузию Лк [55, 65].

Коллоидно-химический подход, на наш взгляд, позволяет классифицировать наиболее типичные усилители проницаемости (табл. 1) на три основные группы:

- растворители (органические и вода),
- липофильные НПВ, для которых значения ГЛБ не превышают 10,

- гидрофильные НПАВ ($ГЛБ \geq 12-13$).

Такая классификация позволяет упорядочить и уточнить механизмы промотирования трансдермального транспорта Лк под действием УП. Данные табл. 1 свидетельствуют о том, что определенный химический тип УП может включать как растворители (отмечены в таблице жирным шрифтом), так и НПАВ, различающиеся по механизму действия. Например, органические растворители частично экстрагируют липиды, образуют водородные связи с липидами, замещая воду в межклеточном липидном пространстве, разжижают липидные бислои.

Подавляющее большинство среди применяемых УП кожи составляют НПАВ, которые обладают обязательными для УП свойствами – высокой дерматологической безопасностью и биосовместимостью [57], причем липофильные НПАВ составляют наиболее многочисленную группу. Среди липофильных поверхностно-активных УП наиболее эффективными являются вещества, углеводородная часть молекул которых близка по строению к цепям липидов, входящих в состав SC, т.е. насыщенные гидрофобные цепи УП (независимо от их количества в молекуле) должны состоять из 10–12 атомов углерода. При наличии в углеводородной цепи УП двойных связей, независимо от их расположения и количества, оптимальная длина – 17–20 атомов углерода [66, 67]. Аналогичные размеры гидрофобных цепей считаются оптимальными и в случае гидрофильных неионогенных поверхностно-активных УП [68], однако, информация об эффективности их действия весьма противоречива.

Так, при исследовании массопереноса веществ с различной степенью липофильности (флюорацил, $lgP_{o/w} = -0.95$; антипирин $lgP_{o/w} = 0.23$; фенилэтанол $lgP_{o/w} = 2.23$) из их растворов в этаноле через эпидермис крыс гидрофильный Твин 20 не проявил промотирующей активности [69]. При этом липофильные НПАВ (Спан 20 и Азон, см. табл. 1) с аналогичным углеводородным радикалом оказались эффективными УП [69].

В работе [70] также не обнаружено влияния Твин 20 (С = 1 масс. %) и Твин 80 (С = 1–5 масс. %) на трансдермальный (через брюшинную кожу кроликов) массоперенос анестетика лидокаина ($lgP_{o/w} = 1.63$), выделяющегося из крема на основе прямых эмульсий касторового масла или жидкого парафина.

Таблица 1. Основные типы усилителей проницаемости кожи, классифицированные по химической структуре на основании обзоров [50, 52, 55–60]

Тип УП	Типичные примеры
Вода	вода*
Сульфоксиды	диметилсульфоксид , децилметилсульфоксид (ГЛБ = 10.2**)
Терпены, терпеноиды и эфирные масла	лимонен , ментол, карвон, эвкалиптовое и скипидарное масла
Пирролидоны	2-пирролидон , N-метил-2-пирролидон , N-гексил-2-пирролидон (ГЛБ = 13), N-додецил-2-пирролидон (ГЛБ = 10.1)
Капролактамы	лаурокапрам (Азон®, ГЛБ = 9.2) и его производные
Жирные спирты	этанол , гексанол (ГЛБ = 6), октанол (ГЛБ = 5.1), деканол (ГЛБ = 4.2), додеканол (ГЛБ = 3.2)
Жирные кислоты	каприновая (ГЛБ = 4.8), лауриновая (ГЛБ = 3.9), олеиновая (ГЛБ = 1)
Гликоли	пропиленгликоль , полиэтиленгликоль 400
Сложные эфиры одноатомных спиртов и жирных кислот	этилацетат , лауриллактат (ГЛБ = 4.4), метиллаурат (ГЛБ = 3.4), цетиллактат (ГЛБ = 2.5), изопропилмиристат (ГЛБ = 1.5), изопропилпальмитат (ГЛБ = 0.6)
Сложные эфиры глицерина и жирных кислот	глицерилмонокаприлат (ГЛБ = 7.1), глицерилмонолаурат (ГЛБ = 5.2), глицерилмоноолеат (ГЛБ = 3.4)
Сложные моноэфиры ангидросорбита и жирных кислот (сорбитаны, торговая марка Span®)	сорбитанолаурат (Спан 20, ГЛБ = 8.6), сорбитанопальмитат (Спан 40, ГЛБ = 6.7), сорбитаноолеат (Спан 80, ГЛБ = 4.3)
Полиоксиэтилированные сорбитаны (торговая марка Tween®)	полиоксиэтилированный (20) сорбитанолаурат (Твин 20, ГЛБ = 16.7), полиоксиэтилированный (20) сорбитанопальмитат (Твин 40, ГЛБ = 15.6), полиоксиэтилированный (20) сорбитаноолеат (Твин 80, ГЛБ = 15.0)

Продолжение таблицы 1

Тип УП	Типичные примеры
Полиоксиэтиленалкиловые эфиры (торговая марка Brij®)	моноэтиловый эфир диэтиленгликоля (транскутол) полиоксиэтилен (23) лауриловый эфир (Бридж 35, ГЛБ = 16.9), полиоксиэтилен (10) цетиловый эфир (Бридж 56, ГЛБ = 12.9), полиоксиэтилен (20) цетиловый эфир (Бридж 58, ГЛБ = 15.7)
Триблоксополимеры этиленоксида (ЕО) и пропиленоксида (РО) (торговая марка Pluronic®)	ЕО ₇₉ -РО ₃₀ -ЕО ₇₉ – Плуороник F68 (ГЛБ > 24), ЕО ₁₀₆ -РО ₆₉ -ЕО ₁₀₆ – Плуороник F127 (ГЛБ = 22), ЕО ₆ -РО ₃₅ -ЕО ₆ – Плуороник L62 (ГЛБ = 7)

***Жирным шрифтом** отмечены УП кожи, являющиеся растворителями.
**Значения ГЛБ взяты из [61] или рассчитаны на основе значений групповых чисел ГЛБ для функциональных групп [62].

Добавка Твин 80 (0.5 масс. %) в мазь на основе смеси жидких углеводов и твердых парафинов приводит к увеличению трансдермального (через эпидермис крыс) массопереноса спарфлоксацина, являющегося антибиотиком широкого спектра действия и имеющего промежуточную липофильность ($lgP_{o/w} = 1.2$), лишь на 20–50% в зависимости от состава мази [71]. При этом в присутствии полиэтиленгликоля (ПЭГ) с $M_w = 400$ Да трансдермальный массоперенос спарфлоксацина увеличивается в большей степени, нежели в присутствии Твин 80 [71].

В работе [72] в опытах *in vitro* с использованием диффузионной ячейки исследовано влияние Твин 20 и 80 на диффузию через кожу крыс гидрофильной аскорбиновой кислоты ($lgP_{o/w} = -2.15$) из ее насыщенных растворов в бинарной смеси вода/глицерин (1/1, по массе). В обоих случаях наблюдалось увеличение проницаемости кожи по отношению к исследованному витамину, причем эффект возрастал с ростом концентрации НП АВ в интервале от 1 до 5 масс. %. Так, при $C_{НПАВ} = 5$ масс. % величина потока Лк и коэффициент проницаемости кожи возрастают в присутствии Твин 80 в 3.9 раз и в 5 раз в присутствии Твин 20 по сравнению с контрольным образцом (без УП). Авторы [72] объясняют промотирующее действие НП АВ увеличением растворимости аскорбиновой кислоты в донорской среде, что повышает градиент химического потенциала,

определяющий величину диффузионного потока. Кроме того, обсуждается деструктурирующее действие НПАВ типа Твин на SC как результат встраивания их молекул в межклеточную липидную матрицу или как следствие солубилизации липидов в мицеллах НПАВ [72].

Особенности полислоистого строения эпидермиса (см. выше), включающего как липофильные, так и гидрофильные области, определяют перспективность ПАВ в качестве УП. Действительно, характерной особенностью ПАВ является способность адсорбироваться на границах раздела фаз и понижать межфазное натяжение, при этом липофильные ПАВ адсорбируются из неполярной фазы, а гидрофильные – из полярной (воды, как правило); ПАВ промежуточной полярности перераспределяются между обеими фазами и адсорбционным слоем [73]. В неполярных средах (особенно в присутствии следовых количеств воды) практически все ПАВ обладают способностью образовывать обратные мицеллы и солубилизовать полярные вещества. Гидрофильные ПАВ ($\text{ГЛБ} \geq 13$) в воде и некоторых полярных средах формируют прямые мицеллы, которые могут солубилизовать малорастворимые неполярные вещества различной природы, в том числе, и Лк [74, 75]. При изменении полярности микроокружения прямые мицеллы ПАВ могут трансформироваться в обратные мицеллы, и наоборот. На перечисленных выше свойствах ПАВ и основаны механизмы их действия в качестве УП кожи.

Следует отметить, что эффективность действия УП при трансдермальной доставке зависит не только от его строения, но во многом определяется свойствами Лк и донорной среды. При этом описанные выше закономерности касаются в основном растворов (реже – гелей, мазей, эмульсий, микроэмульсий и пластырей) в качестве носителей Лк. Когда Лк и УП инкорпорированы в более сложную систему, например в медицинский пластырь, могут наблюдаться существенные отклонения от поведения, характерного для модельных растворов [68]. В этом случае лимитирующей стадией процесса трансдермального массопереноса может оказаться диффузионное высвобождение Лк из ТП, а не его проникновение через кожу. Отмечается [68], что в настоящее время информация о влиянии НПАВ, которые преобладают среди УП, на выделение Лк из ТП очень скудна.

1.1.4. Трансдермальные терапевтические системы для доставки лекарств (пластыри)

Появлению на фармацевтическом рынке каждого нового Лк предшествует его разработка, исследование свойств, лабораторные, предклинические и клинические испытания, а также необходимость одобрения соответствующими организациями. Это сопряжено с огромными финансовыми (~250 миллионов долларов США) и временными (~12 лет) затратами [76]. Поэтому разработка новых лекарственных форм, повышающих биодоступность и эффективность действия уже имеющихся Лк, которая позволяет существенно сократить сроки и расходы, в последние десятилетия приобрела несомненную практическую и научную значимость. К новому перспективному поколению лекарственных форм принадлежат трансдермальные пластыри, способные обеспечить контролируемое поступление Лк через неповрежденную кожу в системный кровоток с терапевтически обоснованной скоростью в течение длительного времени [1, 2]. Поэтому в последнее время различные аспекты доставки Лк при помощи ТП активно изучаются, им посвящено большое число статей, патентов и обзоров [6, 7, 34, 53, 59–60, 64, 76–88]. Обзоры [79, 80] касаются патентных разработок; [78, 85] – полимеров, используемых в ТТС; [34, 58, 86] – ТП для гипотензивных лекарств; [6, 64, 82, 84] – новых технологий повышения проницаемости кожи, основанных на процессах активированного массопереноса Лк (ионофорез, фонофорез, магнитофорез, фотомеханические волны, микроиглы); [7, 59, 60, 76, 77, 81] – современных представлений о ТТС. В отечественной научной литературе информация о трансдермальной доставке Лк, к сожалению, практически отсутствует [83, 88].

Трансдермальные терапевтические системы являются многокомпонентными, и все компоненты ТТС должны быть безопасными, биосовместимыми и не вызывающими раздражения кожи. Их неотъемлемыми составляющими служат Лк, УП кожи и полимер, способный образовывать пленку с хорошими адгезионными свойствами. Кроме того, в состав некоторых типов ТТС входит полимер, образующий матрицу для включения Лк, но не обладающий свойствами адгезива.

Полимерный адгезионный слой (адгезив) обеспечивает контакт между ТТС и кожей. Наиболее широко применяются высокомолекулярные пленкообразующие

адгезивы, которые чувствительны к давлению (АЧД) [89]. Под чувствительной к давлению адгезией (липкостью) понимается способность материала образовывать прочное адгезионное соединение с субстратом при приложении к пленке адгезива небольшого внешнего давления в течение весьма непродолжительного времени (несколько секунд). Кроме того, адгезив должен легко удаляться после использования, не оставляя следов на коже. Известно, что для проявления адгезии полимер должен сочетать высокую текучесть с большой когезионной прочностью и упругостью. К АЧД, используемым в трансдермальных терапевтических системах, относятся: полиакрилаты, эфиры целлюлозы и поливинилпирролидона, полиизобутилены, полиуретаны, производные силикона и др. [78, 89].

В зависимости от способа инкорпорирования Лк трансдермальные пластыри классифицируют на несколько основных типов [6, 7, 53, 59, 80–82], перечисленных ниже:

1. **«Резервуарный»** тип ТП характеризуется наличием резервуара с жидкостью, в которой Лк находится в растворенном, диспергированном или гелеобразном состоянии. Резервуар располагается между внешней базовой пленкой (рис. 5 а, б), непроницаемой для находящихся в резервуаре компонентов, и мембраной, которая проницаема для Лк и определяет скорость его высвобождения. Фиксация на коже обеспечивается дополнительным слоем АЧД (рис. 5а) или за счет адгезионных свойств внешней базовой пленки (рис. 5б). На поверхности ТП находится защитная пленка, удаляемая перед применением. Поскольку мембрана лимитирует скорость процесса доставки Лк, этот тип ТП иногда называют **«мембранным»**. Поток Лк регулируется выбором материала мембраны (в зависимости от природы Лк) и ее толщиной, при этом, как правило, наблюдается постоянный поток Лк ($J = dQ/dt = \text{const}$), обеспечивающий неизменность его концентрации в плазме крови (фармакокинетика нулевого порядка) [7, 81].

2. В ТП типа **«лекарство в адгезиве»** основой служит полимерная матрица (слой АЧД), которая обеспечивает хорошую адгезию к коже и является источником Лк, находящегося в растворенной (реже в диспергированной) форме. Лимитирующей стадией процесса выделения Лк из ТП является его диффузия в полимерном адгезионном слое. Слой АЧД с Лк расположен между базовой и удаляемой перед использованием пленками (рис. 6). Такие пластыри обычно

получают, добавляя Лк и УП в раствор полимерного адгезива в соответствующем растворителе, далее смесь наносят на подложку слоем заданной толщины и высушивают (метод полива). Для обеспечения пролонгированного выделения Лк в ряде случаев пластырь может быть полислоистым, т. е. содержать дополнительные слои адгезива с Лк (иногда разделенные мембраной). Гидрофобные Лк, которых подавляющее большинство, инкорпорируют в растворы липофильных АЧД в неполярных растворителях, наоборот, гидрофильные Лк – в растворы полярных АЧД в полярных растворителях.

3. В **«матричных»** ТП лекарство находится в полимерной матрице, не обладающей адгезионными свойствами и имеющей форму диска с заданными площадью и толщиной. Матрицу получают, диспергируя Лк, УП, полимер в общем растворителе и заливая полученную смесь в форму (удаляемую после высыхания образца), или же методом термоэкструзии с последующим прессованием (формируют диск). Закрепление на коже обеспечивает периферийный кольцеобразный слой АЧД, расположенный вокруг матрицы с Лк. Данный тип ТП включает также окклюзивный слой, базовую и удаляемую пленки (рис. 7). Полимерная матрица определяет скорость высвобождения Лк. К несомненным преимуществам ТП данного типа следует отнести непосредственный контакт матрицы с кожей (без промежуточного слоя адгезива, замедляющего диффузию Лк), а также безопасность (гарантия от передозировки).

4. **«Микрорезервуарные»** ТП имеют дизайн, сочетающий черты матричных и резервуарных пластырей, при этом слой адгезива содержит множество жидких микродоменов с Лк (рис. 8а). Поскольку Лк и адгезив растворяют в разных, несмешивающихся друг с другом растворителях, различающихся по полярности, данный тип ТТС получают через стадию эмульгирования. Микрогетерогенность полимерной пленки, т.е. наличие в ней микрорезервуаров с Лк, обнаруживается только под микроскопом. Если микрорезервуарная матрица обладает недостаточной адгезией к коже, вокруг нее формируют дополнительный слой адгезива (без Лк) в форме кольца (рис. 8б). По внешнему виду такие пластыри не отличаются от матричных, они удобны и компактны.

В настоящее время на рынке имеются ТП, содержащие примерно два десятка различных Лк [90]. К этим медикаментам относятся гормональные, гипотензивные,

сердечнососудистые, обезболивающие, противовоспалительные средства, антидепрессанты, а также Лк от болезней Паркинсона и Альцгеймера. Литературные данные [6. 53, 58, 81, 91–101] обобщены в табл. 2, где приведены наиболее распространенные ТТС, их тип, показания к применению и характеристики инкорпорированного Лк (M_w и $lgP_{o/w}$).

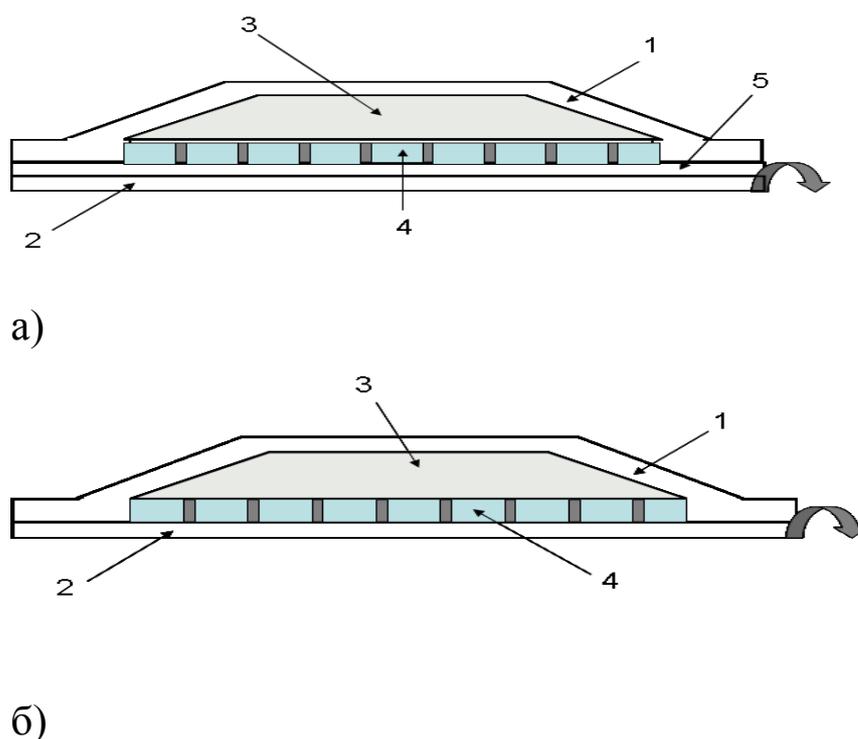


Рис. 5 (а, б).

а) – ТП «резервуарного» типа, где 1 – непроницаемая для компонентов внешняя пленка, 2 – защитная пленка, удаляемая перед применением, 3 – резервуар с Лк, 4 – мембрана, 5 – слой адгезива;

б) – вариант такого же ТП, в котором внешняя пленка 1 обладает адгезионными свойствами и формирует по периферии мембраны кольцо, обеспечивающее прилипание к коже.

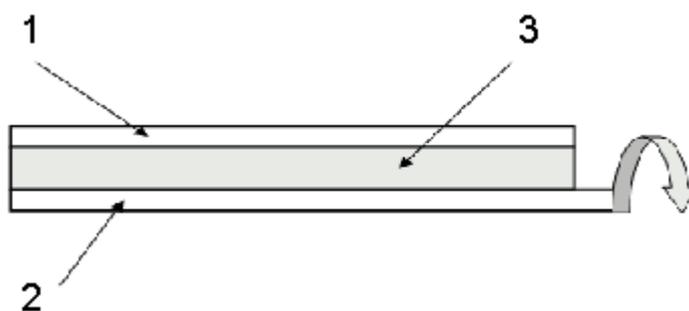


Рис. 6. ТП типа «лекарство в адгезиве»: 1 – непроницаемая для компонентов внешняя базовая пленка, 2 – защитная пленка, удаляемая перед применением, 3 – слой полимерного адгезива с Лк.

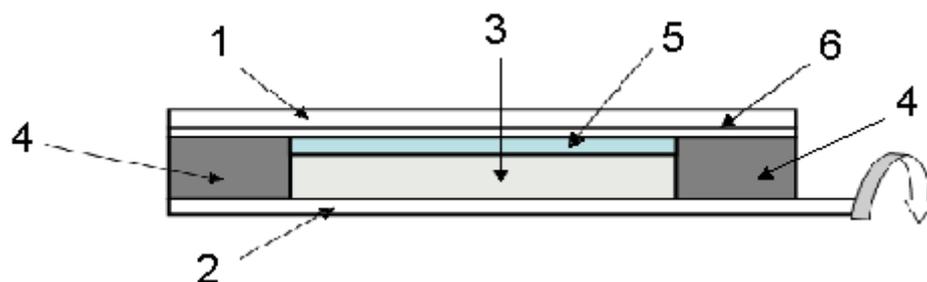


Рис. 7. ТП «матричного» типа: 1 – непроницаемая для компонентов внешняя пленка, 2 – защитная пленка, удаляемая перед применением, 3 – полимерная матрица с Лк; 4 – периферическое кольцо адгезива, 5 – окклюзионный диск, 6 – закрепляющий слой.

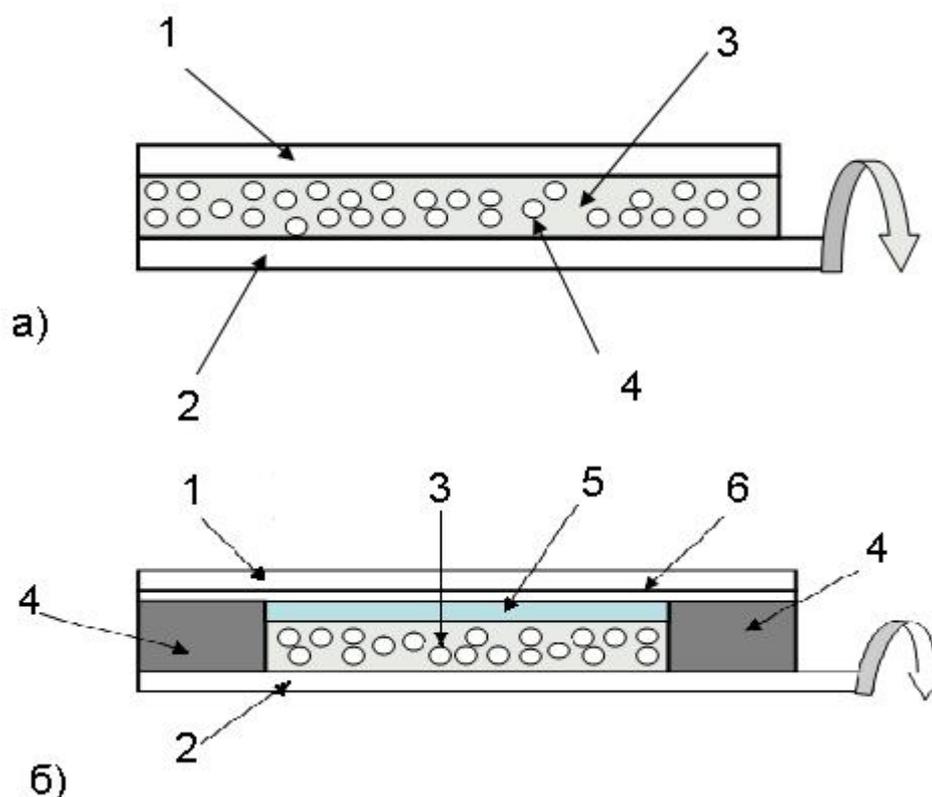


Рис. 8 (а, б).

а) Трансдермальный пластырь «микрорезервуарного» типа: 1 – непроницаемая для компонентов внешняя базовая пленка, 2 – удаляемая перед применением защитная пленка, 3 – полимерный адгезив, содержащий жидкие микродомены с лекарством, 4 – микродомен;

б) ТП того же типа, но периферического дизайна, в котором элементы 1–3 те же, что и на рис. а), 4 – дополнительное периферическое кольцо адгезива, 5 – окклюзионный диск, 6 – закрепляющий слой.

На основании данных табл. 2 можно заключить, что самый простой, удобный и экономичный тип пластырей («лекарство в адгезиве», рис. б), является наиболее распространенным (52 %). Однако данный тип ТТС подходит лишь для Лк, которые являются практически идеальными кандидатами для трансдермальной доставки ($M_w = 162\text{--}411$ Да и $0.83 < \lg P_{o/w} < 2.8$, см. табл. 2).

Доля представленных в табл. 2 ТП резервуарного типа составляет 28 %, инкорпорированные в них Лк также отличаются низкой молекулярной массой и оптимальной липофильностью ($M_w = 227\text{--}337$ Да и $1.24 < \lg P_{o/w} < 2.93$). К достоинствам пластырей данного дизайна можно отнести постоянство скорости выделения активного компонента, особенно, в случае ТП без дополнительного слоя адгезива (рис. 5б). Однако сложность конструкции таких ТТС приводит к росту

производственных затрат, а некоторая их громоздкость – к неудобствам для пациентов. К тому же может иметь место закупорка пор мембраны, что приводит к уменьшению потока Лк и снижает терапевтический эффект. Кроме того, возможны случайные повреждения мембраны, утечка жидкости из резервуара и передозировка. Сообщается [90, 102] о нескольких летальных исходах при использовании ТП резервуарного типа с фентанилом. Поскольку такие пластыри часто содержат металлизированную базовую пленку, они представляют опасность для пациентов с кардиостимуляторами, а также при магниторезонансном обследовании [90].

Из табл. 2 видно, что коммерческие ТТС, содержащие наиболее липофильные Лк – ротиготин и оксibuтинин ($lgP_{o/w} > 3$), относятся к «матричному» типу (рис. 7). Однако следует подчеркнуть, что в 2008 г. пластырь Neupro® с ротиготином утратил одобрение Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов (Food and Drug Administration, FDA) Министерства здравоохранения и социальных служб США вследствие кристаллизации Лк, приводящей к снижению его биодоступности [103]. Тем не менее, в настоящее время ТП данного типа активно разрабатываются различными исследовательскими группами. Так, гипотензивные лекарства (атенолол, дилтиазем, лабетолол, метопролол, нифедипин, нитрендипин, пропранолол, тимолол), характеризующиеся оптимальными значениями липофильности ($1.4 < lgP_{o/w} < 3.21$), инкорпорированы в матричные ТП [58, 104]. Из 33 ТТС с Лк различного назначения, рассмотренных в обзоре [53], 18 являются матричными ТП. И все же, при введении в матричные пластыри очень липофильных Лк ($lgP_{o/w} > 4$), характеризующихся низкой растворимостью в биологических жидкостях, проблема их низкой биодоступности сохраняется [105].

Известен лишь один рыночный продукт микрорезервуарного типа – Nitroedics® фирмы Searle (табл. 2). Он включает липофильную матрицу кремнийорганического полимера, в которой находится множество полярных микродоменов (микрокапель), содержащих нитроглицерин, лактозу, воду и ПЭГ 400 (рис. 8б) [83]. Микрорезервуарные ТП очень удобны и безопасны. Пластыри простейшей конструкции (рис. 8а) даже можно разрезать с целью уменьшения дозы Лк [9]. В них могут быть включены Лк и УП кожи различной полярности. Однако

на сегодняшний день известны лишь единичные примеры разработок ТТС микрорезервуарного типа [10–12, 106], которые представлены в табл. 3.

Таблица 2. Пластыри различного дизайна для трансдермальной доставки лекарств

Лекарство (медицинские показания)	M_w , Да	$lgP_{o/w}$	Торговая марка	Тип ТП
Скополамин (укачивание в транспорте)	303	1.24 [87]	Transderm Scop [®]	резервуарный [81]
Нитроглицерин (стенокардия)	227	2.05 [87]	Deponit [®] , Minitran [®]	Лк в адгезиве [6]
			Nitrodur [®]	матричный [6]
			TransdermNitro [®]	резервуарный [6]
			Nitrodisc [®]	микрорезервуарный [49, 77]
Никотин (никотиновая зависимость)	162	1.2 [88]	Habitraol [®] , Nicotrol [®] , Nicoderm CQ [®]	Лк в адгезиве [6]
Фентанил (хронические боли)	337	2.93 [87]	Duragesic [®] , Matrifen [®]	резервуарный [6]
Эстрадиол (симптомы менопаузы)	272	2.49 [87]	Esclim [®] , Vivelle [®] , Climara [®]	Лк в адгезиве [81]
Тестостерон (гормональная недостаточность)	288	2.2 [89]	Testoderm TTS [®] , Androderm [®]	резервуарный [6, 81, 99]
Клонидин (гипертония)	230	2.55 [54]	Catapres TTS [®]	резервуарный [81]
Ротиготин (болезнь Паркинсона)	315.5	4.36 [90]	Neupro [®]	матричный [91, 94]
Селегилин (депрессия)	187	2.95 [92]	Emsam [®]	Лк в адгезиве [92, 96]
Оксибутинин (гиперактивный мочевой пузырь)	357.5	4.3 [90]	Oxytrol [®]	матричный [6]
Ривастигмин (болезни Паркинсона и Альцгеймера)	250	3.0 [93]	Exelon [®]	матричный [97]

Продолжение таблицы 2

Лекарство (медицинские показания)	M_w , Да	$lgP_{o/w}$	Торговая марка	Тип ТП
Диклофенак диэтиламин (артрит, остеопороз)	369	0.83 [94]	NuPatch 100 [®]	Лк в адгезиве [6]
Лидокаин (анестетик)	272	1.63 [72]	Lidoderm [®]	Лк в адгезиве [6, 100]
Тулобутирол (астма бронхит)	264.2	2.45 [97]	Hokunalin [®]	Лк в адгезиве [101]

Для микрорезервуарных матриц на основе полисилоксанового АЧД, жидкие микродомены которых содержали 2.0–3.6 масс. % верапамила, 17.5 % бутандиола (или 16 % дипропиленгликоля), 0.4–0.5 % гидроксипропилцеллюлозы, в опытах *in vitro* на эпидермисе человека в течение 48 ч наблюдалась постоянная требуемая скорость трансдермального массопереноса Лк [12]. В патенте [106] показано, что трансдермальный (*in vitro* – через эпидермис человека) поток обезболивающего Лк капсаицина из микрорезервуарного ТП, содержащего в микродоменах ненасыщенный раствор лекарства в моноэтиловом эфире диэтиленгликоля (транскутоле), в 2 раза выше, чем из матричного ТП, содержащего диспергированные кристаллы этого Лк (пересыщенная капсаицином матрица). При этом состав полисилоксановой адгезивной матрицы был одинаков в обоих случаях.

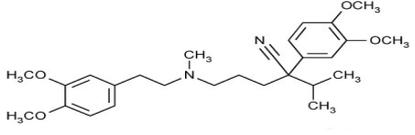
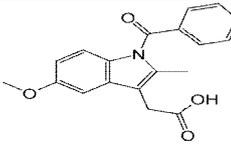
Полярные микродомены микрорезервуарных ТП (табл. 3) представляют собой раствор липофильного Лк (включая очень липофильные препараты, для которых $3 < lgP_{o/w} \leq 5.4$) в дифильном органическом растворителе, который является УП кожи. Более того, и гидрофильные Лк могут быть инкорпорированы в полярные микродомены таких гетерогенных полимерных матриц. При этом (по аналогии с резервуарными ТП) содержание лекарственного компонента в микродоменах, независимо от его полярности, можно легко варьировать путем подбора растворителя, что является несомненным достоинством. К преимуществам микрорезервуарных ТП по сравнению с резервуарными следует отнести их

безопасность, простоту конструкции и компактность. В то же время, микрорезервуарные ТП лишены недостатков, свойственных матричным пластырям, для которых круг инкорпорируемых Лк и возможность увеличения их содержания в матрице ограничены, а также наблюдается кристаллизация Лк, приводящая к уменьшению биодоступности и адгезии. Таким образом, уникальная микрогетерогенная структура полимерной матрицы в ТТС микрорезервуарного типа позволяет сочетать достоинства и избегать недостатков резервуарного и матричного пластырей.

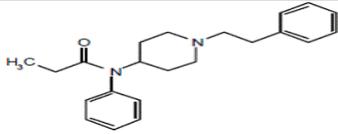
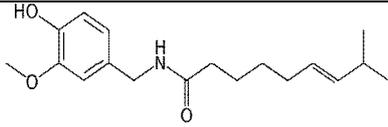
Перспективы создания универсальных микрорезервуарных полимерных матриц-адгезивов для трансдермальной доставки лекарств различной природы, на наш взгляд, связаны с заменой микродоменов на основе органических дифильных растворителей, которые могут вызывать раздражение кожи и аллергические реакции, микродоменами на основе воды. В случае липофильных Лк водные микродомены должны включать самоорганизованные коллоидные структуры (мицеллы НПАВ, микроэмульсии и т.п.). Компоненты микродоменов (вода, НПАВ различной степени липофильности) являются безопасными усилителями проницаемости кожи. Кроме того, растворимость липофильных Лк (которых подавляющее большинство среди современных препаратов) в водной среде в присутствии самоорганизованных ансамблей НПАВ существенно увеличивается, что приводит к синергетическому увеличению трансдермального массопереноса Лк.

В настоящее время исследований и разработок, касающихся микрорезервуарных полимерных адгезивных матриц с водными микродоменами, содержащими Лк, нами не обнаружено. Такие микрогетерогенные матрицы с Лк, на наш взгляд, могут быть получены на основе обратных и двойных эмульсий, что является нетривиальной, актуальной и комплексной коллоидно-химической задачей.

Таблица 3. Трансдермальные терапевтические системы микрорезервуарного типа [10–12, 106]

Верапамил основание [10] (гипотензивное лекарство)			
Структурная формула лекарства		Свойства лекарства	$M_w = 454.6$ Да, $lgP_{o/w} = 5.23$ [58], $T_{пл} < 25^\circ\text{C}$
Состав полярных микродоменов	Бинарный раствор Лк/УП (1/1, по массе). УП: изопропилмиристант, N,N-диэтил-мета-толуамид, глицерин, додецилазациклогептанон (Азон), 40 %-ный водный раствор ПЭГ 400	Основа матрицы	АЧД на основе сшитых полисилоксанов
Способ получения матрицы	Эмульгирование полярного раствора Лк/УП в жидком силиконовом олигомере в присутствии катализатора полимеризации (октаноата олова), отверждение в специальной форме (диск)	Конструкция ТТС	Присутствует дополнительное периферическое кольцо адгезива (см. рис. 8б)
Индометацин [11] (нестероидное противовоспалительное лекарство)			
Структурная формула лекарства		Свойства лекарства	$M_w = 357.8$ Да, $lgP_{o/w} = 4.27$, $T_{пл} = 56^\circ\text{C}$
Состав полярных микродоменов	Раствор Лк в УП (52 %-ном водном растворе ПЭГ 400)	Основа матрицы	АЧД на основе сшитых полисилоксанов
Способ получения матрицы	Эмульгирование раствора Лк в силиконовом олигомере в присутствии блоксополимера полисилоксана и олигооксиэтилена (стабилизатор), введение катализатора полимеризации, отверждение в форме	Конструкция ТТС	Информации нет (сообщается, что полимерная матрица имеет форму диска)

Продолжение таблицы 3

Фентанил [12] (обезболевающее наркотического действия)			
Структурная формула лекарства		Свойства лекарства	$M_w = 336.5$ Да, $lgP_{o/w} = 2.93$ [91], $T_{пл} = 87.5^\circ\text{C}$
Состав полярных микродоменов	Раствор Лк в полярном органическом растворителе (УП), загущенный гидроксиэтил- или гидроксипропил-целлюлозой. УП: дипропиленгликоль, бутанол, транскутол	Основа матрицы	АЧД – полибутилены или полисилоксаны
Способ получения матрицы	Эмульгирование бинарного раствора Лк и УП в неполярной дисперсионной среде (раствор АЧД в гептане), нанесение полученной обратной эмульсии на гидрофобную подложку и высушивание	Конструкция ТТС	Стандартная (рис. 8а) или с дополнительным периферическим кольцом адгезива (рис. 8б)
Капсаицин [106] (лекарство от нейропатической боли)			
Структурная формула лекарства		Свойства лекарства	$M_w = 305.4$ Да, $lgP_{o/w} = 3.07$, $T_{пл} = 65^\circ\text{C}$
Состав полярных микродоменов	Ненасыщенный раствор Лк в транскутоле (концентрация Лк < 50 мас. %)	Основа матрицы	АЧД – смесь линейных и разветвленных полисилоксанов
Способ получения матрицы	Эмульгирование полярного раствора Лк в неполярной дисперсионной среде (раствор АЧД в гептане, гексане или петролейном эфире); нанесение обратной эмульсии на гидрофобную подложку (метод «полива»).	Конструкция ТТС	Стандартная (рис. 8а)

Представленная выше научная информация о факторах, определяющих эффективность трансдермальной доставки лекарств, к которым относятся: барьерные функции кожи, свойства Лк и усилителей проницаемости кожи, а также тип трансдермального пластыря опубликована нами в обзоре [107, 108]. Также проанализированы коллоидно-химические аспекты ТД, связанные с дифильным строением Лк, механизмами действия УП, среди которых преобладают НПАВ, показаны преимущества микрорезервуарных ТТС, информация о которых крайне скудна, что подтверждает актуальность ключевой цели диссертационной работы.

1.2. Основные факторы устойчивости обратных вода/масло и двойных масло₁/вода/масло₂ эмульсий и перспективы их применения для трансдермальной доставки лекарств

Жидкофазные дисперсные системы отличаются большим разнообразием, они включают как термодинамически устойчивые самопроизвольно возникающие системы, так и термодинамически неустойчивые [109]. К последним относится подавляющее большинство эмульсий, которые состоят из капель жидкости (дисперсная фаза), распределенных в другой жидкости (дисперсионная среда), возникают при совершении работы диспергирования (механического, ультразвукового, электрического), обладают высокоразвитой границей раздела с избытком свободной энергии и могут длительно существовать только при наличии факторов стабилизации [109–111].

На рис. 9 схематически представлено строение эмульсий различных типов: прямых масло/вода (М/В), обратных вода/масло (В/М), двойных (или множественных) вода₁/масло/вода₂ (В₁/М/В₂) и масло₁/вода/масло₂ (М₁/В/М₂). В двойных эмульсиях, которые часто называют «эмульсия в эмульсии» [112–114], капли дисперсной фазы содержат внутри еще более мелкие капли жидкости другой полярности (рис. 9). Самые мелкие капли (с размерами < 1 мкм) называют внутренней дисперсной фазой ДЭ, а их поверхность – внутренней межфазной границей. Более крупные капли, размеры которых варьируются в достаточно широком диапазоне 5–100 мкм [114], считаются внешними каплями, а их поверхность – внешней межфазной границей ДЭ. Непрерывную фазу, в которой находятся крупные капли, называют внешней дисперсионной средой ДЭ (рис. 9).

Составы внутренней дисперсной фазы и внешней дисперсионной среды могут быть как одинаковыми, так и различными, в последнем случае ДЭ обозначается как $M_1/V/M_2$ или $V_1/M/V_2$.

Следует различать седиментационную и агрегативную устойчивость эмульсий. Седиментационная устойчивость означает способность эмульсии противостоять действию силы тяжести и оседанию частиц дисперсной фазы (образованию осадка) или же (при соответствующей разности плотностей) действию архимедовой силы и всплыванию капель (формированию «сливок»). Агрегативная устойчивость – это способность сохранять распределение частиц по размерам и свойства во времени. Следует иметь в виду, что агрегативная устойчивость эмульсий носит кинетический характер [109]. Существует несколько процессов, приводящих к разрушению эмульсий, т.е. к потере их стабильности: коалесценция (слияние капель), коагуляция и флокуляция (слипание капель), изотермическая перегонка или оствальдово созревание (массоперенос вещества дисперсной фазы от маленьких капель к более крупным по градиенту химического потенциала). Укрупнение частиц может в дальнейшем приводить к потере седиментационной устойчивости эмульсий.

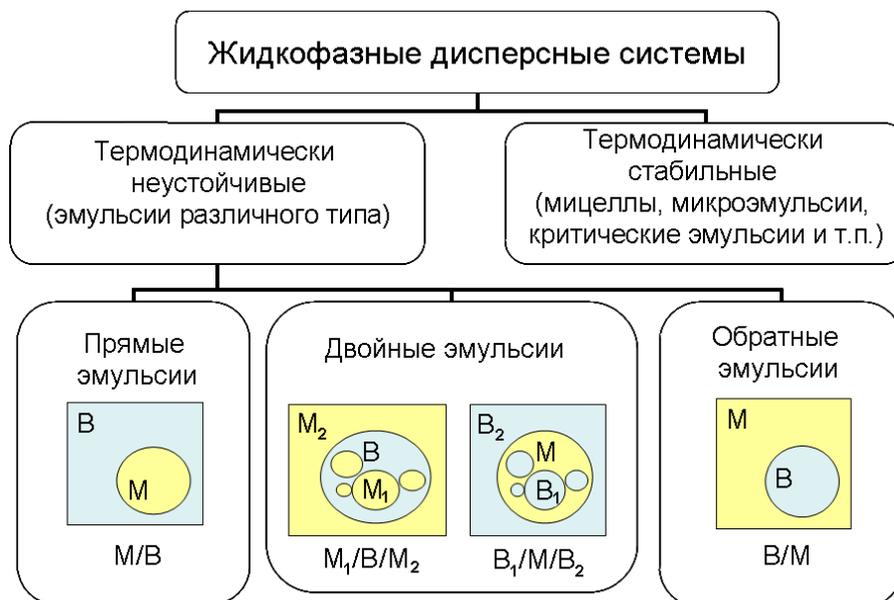


Рис. 9. Схематическое строение эмульсий различных типов (М – неполярная жидкость, В – полярная жидкость, как правило, вода).

Эмульсии могут быть агрегативно устойчивыми и сохраняющими свои свойства достаточно долго при наличии факторов стабилизации, к которым относятся [109]:

1. Эффективная упругость пленок с адсорбционными слоями ПАВ – эффекты Гиббса и Марангони-Гиббса;
2. Электростатическое отталкивание диффузных частей двойных электрических слоев в случае использования для стабилизации ионогенных ПАВ;
3. Гидродинамическое сопротивление прослойки дисперсионной среды вытеканию;
4. Структурно-механический барьер, впервые рассмотренный П.А. Ребиндером и связанный с образованием на межфазной поверхности капель адсорбционных слоев высокомолекулярных ПАВ, обеспечивающих снижение межфазного натяжения до десятых и сотых долей мН/м («псевдолиофильные» системы), что гарантирует защиту от коагуляции. Структура и механические свойства таких слоев способны «защитить» частицы дисперсной фазы также от коалесценции. Защитным барьером могут служить и адсорбционные слои ультрадисперсных частиц твердого стабилизатора на межфазных границах частиц дисперсной фазы.

Тип, стабильность и свойства эмульсий зависят от состава и соотношения жидких фаз, количества и химической природы эмульгаторов, способа эмульгирования, температуры и т.п.. Изменение состава или внешние воздействия могут вызывать так называемое обращение фаз – превращение прямой эмульсии в обратную, или наоборот.

В отличие от обычных эмульсий, где жидкости различной полярности разделены единственной межфазной границей масло/вода, ДЭ включают две поверхности масло/вода (внешнюю и внутреннюю). Несмешивающаяся промежуточная фаза, отделяющая мелкие капли от внешней дисперсионной среды, может рассматриваться как жидкая мембрана. В эмульсиях М/В/М такой мембраной является водная прослойка, а в эмульсиях В/М/В – масляная. По этой причине множественные эмульсии известны как жидкие эмульсионные мембраны [115, 116].

Благодаря своему строению и свойствам двойные эмульсии весьма перспективны для использования в фармацевтике, косметологии, пищевой

индустрии, процессах разделения и т. д. [117, 118]. Они способны иммобилизовывать водо- и маслорастворимые компоненты (например, лекарства) в одну из своих несмешивающихся фаз с последующим их пролонгированным выделением [118–122]. Двойные эмульсии могут усиливать действие лекарственных препаратов [123], защищать инкорпорированные в них вещества от деградации [124, 125], использоваться для захвата токсичных веществ из разбавленной дисперсионной среды во внутреннюю дисперсную фазу в процессах очистки, служить премиксом при получении микро- и нанокапсул [126–130].

Двойные эмульсии, содержащие высокоразвитые межфазные поверхности различной природы с избытком свободной энергии, гораздо менее стабильны, нежели обычные эмульсии. Это вызвано большими размерами внешних капель, интенсивными процессами массопереноса компонентов между внутренней дисперсной фазой и внешней дисперсионной средой под действием градиентов осмотического давления, а также конкурирующим действием липофильных и гидрофильных ПАВ, одновременное присутствие которых в ДЭ обязательно [131, 132]. Разрушение ДЭ может происходить по различным механизмам в зависимости от их композиционного состава и микроструктуры:

- коалесценция внешних капель ДЭ [131, 133];
- коалесценция внутренних капель (более медленный процесс по причине их малых размеров) [131, 133];
- коалесценция внутренних капель с дисперсионной средой ДЭ при их приближении к внешней границе жидкой мембраны [131, 133];
- уменьшение или увеличение размеров внутренних капель, возникающее вследствие массопереноса компонентов через жидкую мембрану под действием градиентов осмотического давления [131, 133];
- коагуляция и флокуляция (слипание капель);
- изотермическая перегонка (оствальдово созревание) [134].

Перечисленные механизмы могут реализовываться одновременно, увеличивая скорость разрушения ДЭ. Однако при условии эффективной стабилизации эмульсии могут в течение длительного времени сохранять стабильность.

Получить агрегативно устойчивую двойную эмульсию гораздо сложнее, нежели обычную, поскольку ДЭ содержит не только прямую эмульсию, для

стабилизации которой необходимо водорастворимое ПАВ с высоким значением ГЛБ, но и обратную эмульсию, стабильность которой обеспечивается маслорастворимым ПАВ с низким значением ГЛБ. Поэтому, как правило, ДЭ получают в две стадии [112–114]. Сначала при интенсивных затратах энергии получают первичную тонкодисперсную эмульсию (прямую или обратную в зависимости от типа ДЭ), на второй стадии эту первичную эмульсию осторожно диспергируют во внешней дисперсионной среде. Для эмульсии М/В/М на первой стадии процесса используют гидрофильное ПАВ, а на второй стадии – липофильное. Наоборот, в случае В/М/В эмульсии на первой стадии первичную обратную эмульсию стабилизируют липофильным ПАВ, на второй стадии применяют эмульгатор с высоким значением ГЛБ. При этом основными факторами стабилизации двойных эмульсий являются: эффективная упругость адсорбционных стабилизирующих слоев [134]; электростатическое отталкивание одноименно заряженных адсорбционных слоев стабилизатора [135–136]; гидродинамическое (вязкое) сопротивление прослойки дисперсионной среды, препятствующее сближению капель [137, 138]; стерическое отталкивание адсорбированных на поверхности капель полимерных молекул, обусловленное энтропийным (ограничения при изменении конформации макромолекул) и осмотическим эффектами, которые начинают действовать при сближении капель задолго до упругого отталкивания адсорбированных макромолекул, обладающих собственным объемом [139].

Несмотря на попытки исследователей разработать составы эмульгирующих композиций, а также оптимальные способы получения стабильных двойных эмульсий, в настоящее время доступно лишь несколько коммерческих продуктов на их основе. Поэтому проблема агрегативной устойчивости ДЭ не утратила актуальности. Следует подчеркнуть, что подавляющее число исследований посвящено эмульсиям В/М/В [121, 123, 125–127, 136–138, 140] и лишь немногие работы касаются М/В/М эмульсий, для которых проблема стабильности стоит более остро, поскольку в олеофильных дисперсионных средах отсутствуют некоторые эффективные факторы агрегативной устойчивости (электростатическое отталкивание, структурно-механический барьер), и которые еще труднее получить в стабильном состоянии. Вместе с тем, эти ДЭ с иммобилизованным во внутренней

масляной фазе гидрофобным лекарством способны обеспечить пролонгированное выделение препарата в биодоступной форме. Кроме того, водная жидкая мембрана М/В/М эмульсий может аккумулировать также гидрофильные целевые компоненты с последующей их доставкой.

Поскольку подавляющее большинство полимерных адгезивов являются липофильными, а адгезив должен находиться в дисперсионной среде разрабатываемых в данной работе эмульсий, обратные и, особенно, двойные М/В/М эмульсии, их компонентный состав, свойства и перспективы практического применения будут объектами дальнейшего рассмотрения.

В таблице 4 обобщены литературные данные о составах и свойствах двойных эмульсий М/В/М. Если не оговорено особо, то способ получения ДЭ являлся двухстадийным. В ряде случаев информация о соотношении фаз ДЭ отсутствовала и поэтому не приведена в данной таблице.

Одна из первых работ [141], посвященная изучению влияния инкорпорирования анальгетика пентазоцина в различные фазы $M_1/V/M_2$ эмульсий на их способность выделять лекарство, была проведена в 1989 году. Показано [141], что присутствие лекарства одновременно во внутренней масляной фазе M_1 и в водной мембране обеспечивает наиболее равномерное и длительное выделение пентазоцина (см. табл. 4).

В работе [142] исследуется возможность использования двойной $M_1/V/M_2$ эмульсии для трансдермальной доставки гидрокортизона. В опытах *in vitro* показано, что скорость массопереноса Лк через кожу мышей составляет 3–4 мкг/(см²·ч). При этом выход лекарства составил 13.6 %. Тем же авторским коллективом исследована [143] возможность применения ДЭ, содержащих в качестве M_2 силиконизированные масла различной молекулярной массы и вязкости (Диметикон 10–1000, вязкость равна 10 – 1000 сСт, соответственно), для трансдермальной доставки тритерпеновых производных. Показано, что процент переноса активного компонента через кожу мышей (*in vitro*) возрастал с 7.6 до 13.7% по мере загущения внешней дисперсионной среды M_2 .

В ряде работ исследуется перспективность применения ДЭ типа $M_1/V/M_2$ в качестве премикса для получения полых микросфер [144, 145] и микрокапсул с инкорпорированным активным компонентом [128, 129]. Так, в работе [145] на

основе двойной эмульсии (см. табл. 4) получены субмикронные полые сферы оксида меди (I). ДЭ были стабилизированы поливинилпирролидоном (ПВП), находящимся во внутренней дисперсной фазе M_1 , и полиоксиэлитированным (7) лауриловым спиртом ($C_{12}OE_7$), присутствующим во внешней дисперсионной среде M_2 . реакция восстановления сульфата меди (II) протекала в водной мембране ДЭ. При нагревании и воздействии микроволн (2.45 МГц, 65 Вт) в водной мембране ДЭ протекала реакция восстановления сульфата меди (II). Использовались свежеприготовленные ДЭ, поэтому их стабильность не анализировалась.

Так, в работах [128, 129] получены силиконовые микрокапсулы на основе ДЭ, в которых ретинол (витамин А) использовался в качестве M_1 (см. табл. 4). Методом золь-гель перехода из ДЭ получали силиконовые микрокапсулы. Выделение ретинола из микрокапсул изучали при помощи ВЭЖХ. Авторами [128, 129] отмечено, что полимеры, содержащиеся в водной прослойке (В) и внешней дисперсионной среде (M_2 , см. табл. 1), являются ключевыми стабилизаторами, так как в их отсутствии происходило обращение фаз, приводящее к образованию обычной обратной эмульсии В/ M_2 , дисперсионная среда которой экстрагировала весь ретинол. Добавление ГПЦ и ПЭГ увеличивало вязкость двойной эмульсии, что предотвращало обращение фаз.

Эффективность применения содержащего олеофильное НПАВ (полиоксиэтилен (14) ди-изостреарат) лиозоля гидрофобной глины (гидрофобизованный монтмориллонит) в качестве внешней дисперсионной среды ДЭ показана в работе [146]. Представлена фазовая диаграмма, на которой обозначены области существования стабильных и нестабильных ДЭ, а также области, где образование таких эмульсий невозможно, отражающая влияние концентрации твердого эмульгатора (глины) и олеофильного НПАВ. Авторы полагают, что наночастицы глины и олеофильное НПАВ, адсорбируясь на внешней межфазной границе ДЭ, оказывают стабилизирующее действие.

Показано [124], что стабилизированные гидрофобными глиной и НПАВ двойные эмульсии, в которых ретинол растворен во внутренней дисперсной фазе, оказывают более эффективное защитное действие по отношению к витамину А по сравнению с обычными эмульсиями с аналогичным композиционным составом. Так, в результате 4-х недельного хранения в жестких условиях (50°C) ретинол,

инкорпорированный в ДЭ, разложился на 43 %, тогда как в случае обычных эмульсий – на 60 и 70 % для прямой и обратной, соответственно. Эффективный состав ДЭ с ретинолом приведен в табл. 4, а ее морфология по данным оптической микроскопии – на рис. 10.

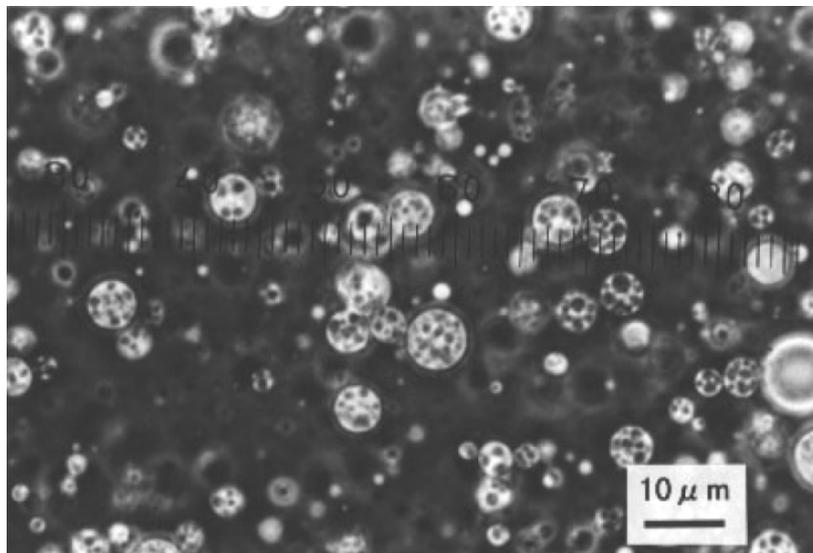


Рис. 10. Морфология двойной эмульсии $M_1/W/M_2$, содержащей ретинол и стабилизированной гидрофобной глиной [124].

В работе [147] предложен оригинальный способ контроля за массопереносом вещества из внутренней дисперсной фазы (M_1 - тетрадекан) во внешнюю дисперсионную среду (M_2 – гексадекан) ДЭ с использованием метода дифференциальной сканирующей калориметрии (см. табл. 4). Руководствуясь диаграммой кристаллизации для смеси тетрадекан – гексадекан (0–100 %) и набором кристаллизационных термограмм для ДЭ, полученных при разных значениях времени хранения (от 1 мин до 26 сут), определялось содержание тетрадекана в M_2 . Показано, что скорость массопереноса тетрадекана возрастала по мере увеличения концентрации ПАВ в водной жидкой мембране, что обусловлено массопереносом углеводорода мицеллами ПАВ, в которых он солубилизирован.

В работе [148] показано, что с ростом объемной доли (ϕ_V) первичной эмульсии M_1/W увеличивается эффективная вязкость ($\eta_{эфф}$) ДЭ $M_1/W/M_2$. Составы представлены в табл. 4. При этом, в качестве M_1 и M_2 использовано минеральное масло Cogema 32 с вязкостью 64 сПз, что примерно в 100 раз превышает вязкость

углеводородов, обычно используемых в ДЭ. Предложена модификация уравнения Муни [149], описывающая зависимости $\eta_{эфф}$ от ϕ_V .

Таблица 4. Составы двойных эмульсий $M_1/V/M_2$, а также область их применения по литературным данным

[141]			
Фазы ДЭ	M_1	V	M_2
Состав фазы (масс. %)	жидкий парафин, пентазацин (0, 0.6)	вода, Твин 40 (2.0), пентазацин (0, 0.6)	жидкий парафин, Спан 80 (1.0), пентазацин (0, 0.6)
Содержание фазы в ДЭ, масс. %	8	12	80
Результат	Пролонгированное выделение пентазацина из ДЭ при его инкорпорировании в M_1 и V.		
[142]			
Состав фазы (масс. %)	жидкий парафин, эмульгатор с ГЛБ = 4.6, гидрокортизон (0.5)	вода, эмульгатор с ГЛБ = 22	микрорекристаллический. воск
Результат	Трансдермальная доставка гидрокортизона		
[143]			
Состав фазы (масс. %)	жидкий парафин, микрорекристаллический. воск, эмульгатор (ГЛБ 4.6), тритерпеновое производное	вода, эмульгатор с ГЛБ = 22	жидкий парафин, диметикон (10–1000)
Содержание фазы в ДЭ, масс. %	20	50	30
Результат	Трансдермальная доставка тритерпеновых производных из ДЭ увеличивается по мере загущения M_2 .		
[145]			
Состав фазы (масс. %)	гептан; ПВП, $M_w = 30$ кДа (50)	вода, $CuSO_4$ (2 mM), $C_4H_4O_6KNa$ (4 mM), NaOH (44 mM), Декстроза (12 mM)	гептан; $C_{12}OE_7$
Содержание фазы в ДЭ, масс. %	9.5	19	71.5
Результат	ДЭ как премикс для получения субмикронных полых сфер оксида меди (I).		

Продолжение таблицы 4

[129]			
Фазы ДЭ	M ₁	B	M ₂
Состав фазы (масс. %)	ретинол	вода, Твин 20 (0.5), NH ₄ OH (25.0), ПЭГ, 20 кДа (1.2)	деканол, тетраэтилортосиликат, ГПЦ (0.8), Спан 80 (13.0)
Результат	На основе ДЭ получены микрокапсулы, выделяющие ретинол.		
[128]			
Состав фазы (масс. %)	ретинол	вода, Твин 20 (2.5), NH ₄ OH/HCl – 0.2 М	деканол, тетраэтилортосиликат, ГПЦ (0.8), Спан 80 (2.0)
Содержание фазы в ДЭ, масс. %	0.5	4.5	95
Результат	На основе ДЭ получены микрокапсулы, выделяющие ретинол		
[146]			
Состав фазы (масс. %)	жидкий парафин	вода, бутиленгликоль (20), стабилизатор НСО-60 (0–3)	жидкий парафин; гидрофобизованная глина (0–2.5), стабилизатор DIS-14 (0–1)
Содержание фазы в ДЭ, масс. %	15–24	35–56	20–50
Результат	Стабильность M ₁ /B/M ₂ эмульсий, полученных на основе лиозоля гидрофобной глины в жидком парафине, возрастала по мере увеличения концентрации глины и гидрофобного ПАВ.		
[124]			
Состав фазы (масс. %)	жидкий парафин, ретинол (1)	вода, 1.3-бутандиол (8.3), глицерин (8.3), НСО-60 (1.7), Метилпарабен – антисептик (0.17)	Жидкий парафин (27.6), Смектон DS100 – глина (2), Эмалекс 600 – НПВВ (0.4)
Содержание фазы в ДЭ, масс. %	10.1	59.9	30
Результат	ДЭ как протектор ретинола.		

Продолжение таблицы 4

[147]			
Фазы ДЭ	M ₁	B	M ₂
Состав фазы (масс. %)	тетрадекан	вода, Твин 20 (2–7)	гексадекан; Abil EM 90 (5)
Содержание фазы в ДЭ, масс. %	26	39	35
Результат	Экспериментально оценена скорость массопереноса вещества из внутренней дисперсной фазы во внешнюю дисперсионную среду ДЭ.		
[148]			
Состав фазы (масс. %)	Corena 32	вода, Тритон X-100 (2)	Corena 32, Emsorb 2500 (1)
Содержание фазы в ДЭ, масс. %	25–60		75–40
Результат	Сопоставлены реологические свойства первичных M ₁ /B и двойных M ₁ /B/M ₂ эмульсий. Проанализировано влияние объемной доли первичной эмульсии в ДЭ.		
[149]			
Состав фазы (масс. %)	пальмовое масло (<i>Orbignya oleifera</i>)	не приведен	минеральное масло, пальмовое масло (3–6), ПЭГ-30 диполигидро- ксистеарат (5–6), триглицерид каприловой/каприновой кислот (5), гликолевый эфир C ₁₈ –C ₃₆ кислот (0.02), α-D-глюкопиранозид (0–10)
Содержание фазы в ДЭ, масс. %	4–7	36–63	60–30
Результат	Показано, что увеличение концентрации первичной эмульсии M ₁ /B (до 70 масс. %) и вязкости внешней дисперсионной среды M ₂ увеличивает стабильность ДЭ.		

Анализ литературных данных показал эффективность «загущения» внешней дисперсионной среды ДЭ для повышения их стабильности. Увеличение вязкости достигается за счет использования силиконизированных [143] и минеральных [148]

масел, ГПЦ [128, 129], олеофильной глины [124, 146]. Круг используемых структурирующих добавок весьма ограничен. При этом олеофильные полимеры, относящиеся к АЧД, в качестве загустителей дисперсионной среды двойных М/В/М эмульсий, равно как и обратных В/М эмульсий, ранее не применялись.

Можно констатировать, что до настоящего времени не зафиксировано случаев получения стабильных обратных и двойных эмульсий, содержащих обязательные для трансдермальной доставки компоненты (Лк, УП кожи, полимерный адгезив), и соответственно, применения таких эмульсий в качестве основы микрогетерогенных адгезивных матриц для доставки Лк. Это позволило подтвердить новизну ключевой цели и конкретных задач работы.

Глава 2. МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Методы исследования

2.1.1. УФ-спектроскопия

Растворимость лекарств оценивалась спектрофотометрически на однолучевом спектрофотометре Agilent 8453 (USA). Рабочий диапазон длин волн составлял 200–1000 нм. Спектры получали относительно растворов с тем же композиционным составом, но в отсутствие Лк. Для измерений использовались кварцевые кюветы толщиной 1 см. Точность определения оптической плотности (A) составляла $\pm 1 \cdot 10^{-4}$.

Значения растворимости (солюбилизации) лекарства ($S_{\text{Лк}}$) вычисляли из соотношения:

$$S_{\text{Лк}} = (A_{\text{max}}/E_{\text{max}}) \cdot P, \quad (9)$$

где A_{max} – оптическая плотность насыщенного лекарством раствора при длине волны (λ_{max}), соответствующей максимуму поглощения (A_{max}); E_{max} – молярный коэффициент экстинкции Лк в данном растворителе, определяемый из экспериментальной калибровочной зависимости $A_{\text{max}}(C_{\text{Лк}})$; P – разбавление образца.

Соответствующий растворитель (вода, мицеллярный раствор НПВ, гептан и т.п.) предварительно насыщали Лк. Для этого избыточные навески Лк вносились в растворитель, растворы хранились в темном месте при периодическом перемешивании с помощью магнитной мешалки. Перед спектрофотометрическими измерениями жидкость над осадком Лк осторожно отбирали и фильтровали (0.22 мкм, «Millipore»), при необходимости разбавляли подходящим растворителем.

Значения E_{max} для лекарств в различных растворителях, необходимые для определения растворимости (ур. 9), приведены в табл. 5.

Таблица 5. Значения длин волн и молярных коэффициентов экстинкции, соответствующих максимуму поглощения, для амлодипина и фелодипина в различных средах

Растворяющая среда	Амлодипин		Фелодипин	
	λ_{\max} , нм	E_{\max} , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$	λ_{\max} , нм	E_{\max} , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$
Вода	366	6283±20	366	–
Этанол/вода (40/60, масс.)	364	6950±20	364	6943±20
Водный раствор Тв (5 мМ)	364	6952±20	364	6948±20
н-Пропиловый спирт	363	–	363	6795±20
Гептан	357	6075±30	345	5580±20

2.1.2. Рефрактометрия

Метод рефрактометрии использовался в работе для определения растворимости УП кожи в различных растворителях. Подход основан на правиле аддитивности удельной рефракции [150–152]. Для раствора исследуемого компонента можно написать следующее выражение:

$$m_p R_p = m_{\text{УП}} R_{\text{УП}} + m_{\text{Р-ля}} R_{\text{Р-ля}}, \quad (10)$$

где $R_i = ((n_i^2 - 1)/(n_i^2 + 2))/\rho_i$ – удельная рефракция; n_i , m_i и ρ_i – показатель преломления, масса и плотность раствора или соответствующего компонента (см. подстрочные индексы). Вводя обозначение $(n_i^2 - 1)/(n_i^2 + 2) = \Pi_i$, получаем выражение:

$$V_p \Pi_p = V_{\text{УП}} \Pi_{\text{УП}} + V_{\text{Р-ля}} \Pi_{\text{Р-ля}}, \quad (11)$$

где $V_i = m_i/\rho_i$ – объем i -ого компонента.

При условии аддитивности объемов ($V_p = V_{\text{Р-ля}} + V_{\text{УП}}$) можно записать:

$$V_{\text{УП}} = V_{\text{Р-ля}} (\Pi_p - \Pi_{\text{Р-ля}}) / (\Pi_{\text{УП}} - \Pi_p). \quad (12)$$

При известном значении $n_{\text{УП}}$ и плотностей ρ_i , измеряя показатели преломления насыщенного раствора исследуемого компонента и растворителя, по уравнению (12) определяли растворимость УП в данном растворителе (вода, раствор НПВ, гептан и т.д.).

Показатели преломления определяли при помощи рефрактометра ИРФ-23 (Россия). Источник излучения – натриевая лампа (589.3 нм). Показатель преломления n_D определяется соотношением:

$$n_D = (N_D^2 - \sin^2\theta)^{1/2}, \quad (13)$$

где N_D – показатель преломления измерительной призмы (1.616852); θ – предельный угол выхода луча из призмы (с поправкой на ноль-пункт). Точность измерения n_D составляла $\pm 5 \cdot 10^{-5}$.

2.1.3. *Динамическое рассеяние света*

Для исследования динамического рассеяния света (ДРС) в исследованных системах использовали фотонный корреляционный спектрометр PhotoCor SP (Россия), источником света в котором служит He-Ne лазер с длиной волны излучения (λ) 632.8 нм. Измерения осуществляли в неполяризованном свете при угле рассеяния 30° . Значения среднего гидродинамического радиуса мицелл, а также капле эмульсии вычисляли по уравнению Стокса-Эйнштейна:

$$R_h = kT/6\pi\eta D_0, \quad (14)$$

где η – вязкость растворителя, T – температура, D_0 – коэффициент диффузии рассеивающих частиц, k – постоянная Больцмана.

Перед измерениями образцы фильтровали (фильтры «Millipore» с диаметром пор 0.22 мкм) с использованием одноразовых игл и шприцов непосредственно в измерительную кювету. Точность метода составляла ± 1 нм.

2.1.4. *Статическое рассеяние света*

Измерения статического рассеяния света (СРС) проводили при угле рассеяния 90° на том же приборе, что и в случае ДРС. Это позволяет проводить измерения на одном и том же образце обоими методами, что существенно повышает точность определения степени гидратации мицелл ПАВ, которая оценивается при сочетании данных ДРС и СРС [153, 154]. Прибор калибровали по бензолу. Коэффициент рассеяния (или отношение Рэлея, R_{90}) для исследуемых растворов вычисляли из соотношения [155, 156]:

$$R_{90} = (I/I_T)R_{90T}(n/n_T)^2, \quad (15)$$

где I и I_T – значения интенсивностей рассеянного света соответственно для раствора и для толуола; R_{90T} – отношение Рэлея для толуола, равное $1.03 \cdot 10^{-5} \text{ см}^{-1}$ при $\lambda = 632.8 \text{ нм}$ [157]; n и n_T – соответственно показатели преломления раствора и толуола при $\lambda = 632.8 \text{ нм}$. Значения интенсивности рассеянного света усреднялись по 100 измерениям, выполненным через каждые 33.5 с, что позволяет существенно повысить точность определения I .

Значения показателей преломления для исследуемых растворов и толуола (входящие в уравнение 15) при длине волны падающего света $\lambda = 632.8 \text{ нм}$ определяли из экспериментальных зависимостей $n_\lambda(\lambda)$, полученных на рефрактометре ИРФ-23 при различных длинах волн (486.1, 589.3 и 656.3 нм). В качестве примера на рис. 11 и 12 соответственно приведены зависимости $n_\lambda(\lambda)$ для толуола и водных растворов Твин 80 различных концентраций и толуола, которые с высокой степенью точности описываются полиномами второй степени, из которых рассчитывались значения $n_{632.8}$.

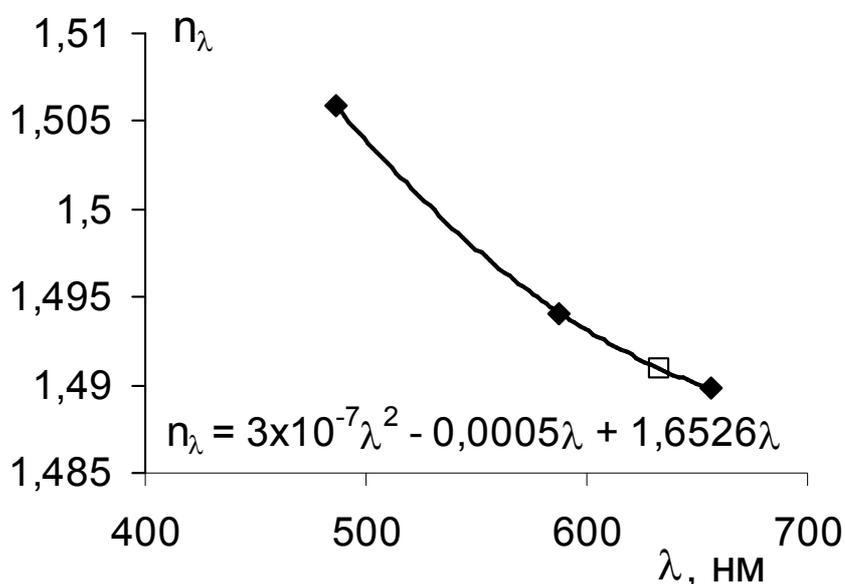


Рис. 11. Зависимость показателей преломления от длины волны падающего света для толуола. Бесцветный символ соответствует $n_{632.8}$.

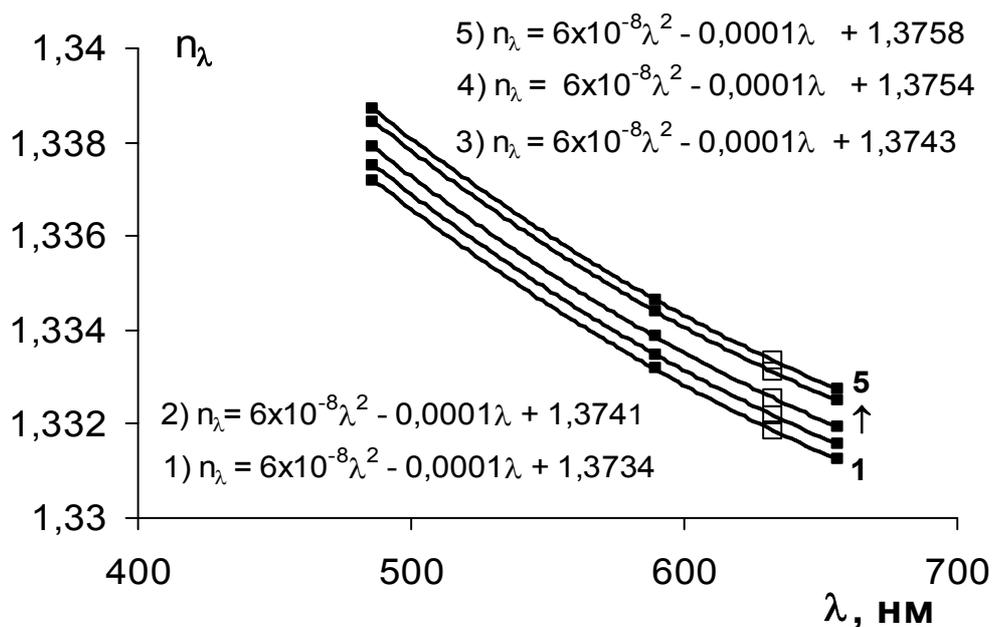


Рис. 12. Зависимости показателей преломления от длины волны падающего света для водных растворов Твин 80 различных концентраций: 1 – $3,92 \cdot 10^{-3}$, 2 – $6,54 \cdot 10^{-3}$, 3 – $9,16 \cdot 10^{-3}$, 4 – $1,31 \cdot 10^{-2}$, 5 – $1,57 \cdot 10^{-2}$ г/см³. Бесцветные символы соответствуют значениям $n_{632,8}$.

Метод СРС позволяет определять средневесовые значения мицеллярной массы и числа агрегации компонентов в мицеллах (глава 3).

2.1.5. Дисперсионный анализ

Распределение частиц по размерам в эмульсиях исследовали с помощью динамического рассеяния света на высокоскоростном анализаторе Zetatrac™ (модель NPA152 фирмы «Microtrac INC», Nikkiso), работающем по принципу лазерной дифракции. Лазерный диод служил источником излучения с длиной волны 730 нм. Предварительного разбавления образцов не требовалось. В качестве среды сравнения использовали 0.01 масс. % водный раствор азиды натрия, который использовался в качестве дисперсионной среды эмульсий. Для каждого образца в течение 60–120 мин. проводились периодические измерения с интервалом в 3–6 мин. Время отсчитывалось с момента приготовления эмульсии. Обработка полученных данных осуществлялась с помощью программного обеспечения Microtrac FLEX Software. Получали дифференциальные кривые распределения, характеризующие объемную долю (или об. %) частиц каждого диаметра. В

качестве среднего размера частиц при данной технике измерения принято использовать медианный диаметр, соответствующий такому размеру частиц, что 50 % популяции оказываются равных или больших размеров, а 50 % частиц имеют меньшие размеры.

2.1.6. Оптическая микроскопия

Морфологию эмульсий исследовали с помощью оптической микроскопии (ОМ). Микроскоп Axioskop 40 («Carl Zeiss») снабжен цифровым фотоаппаратом Canon Power Shot A620. Позволяет анализировать образцы в неполяризованном и поляризованном свете. Масштабирование полученных изображений осуществлялась с помощью программы Adobe Photoshop CS.

2.1.7. Атомно-силовая микроскопия

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) – разновидность сканирующей зондовой микроскопии, в основе которой лежит измерение сил, действующих на зонд. Обычно в качестве зонда используется кантилевер, то есть микроскопическая балка с иглой на конце [158]. АСМ позволяет с высокой степенью разрешения исследовать морфологию поверхностей различной природы, включая полимерные матрицы. В работе использован атомно-силовой микроскоп N'Tegra Aura (фирмы НТ-МДТ, Россия) со встроенными ёмкостными датчиками для компенсации нелинейности сканера. Применяли кремниевые кантилеверы NSC15 (MikroMash, Эстония). Измерения проводили в полуконтактном режиме сканирования при постоянной амплитуде колебаний в режиме отталкивания. Изображения рельефа («height») и изображения сигнала ошибки рассогласования («mag») получали с помощью программы Gwyddion, входящей в пакет свободного и открытого программного обеспечения под лицензией GNU General Public License (Универсальная общественная лицензия GNU). Программа находится в открытом доступе на сайте разработчика [159].

2.1.8. Сканирующая электронная микроскопия

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) – разновидность электронной микроскопии, в которой в качестве зонда при сканировании исследуемой

поверхности используется сфокусированный пучок электронов. Для формирования изображения используется детектирование различных сигналов, включая вторичные электроны, обратно рассеянные электроны, рентгеновское излучение и ток через образец. Двумерная карта снимаемого сигнала представляет собой изображение поверхности [160].

Использовали сканирующий электронный микроскоп Leo 50VP фирмы Zeiss. Для предотвращения накопления электрических зарядов перед исследованием на поверхность образцов магнетронным напылением на установке Quorum Q150T наносили плёнку хрома толщиной ~5 нм. Применяли относительно низкие ускоряющие напряжения ($U = 3-5$ кВ), что позволило визуализировать приповерхностную часть образца и избежать дефектов, которые могут быть вызваны воздействием электронного пучка при более высоких значениях U (15–20 кВ). Изображения получали при помощи двух типов детекторов вторичных электронов. Для анализа рельефа образцов на малых увеличениях использовали детектор Эверхарта-Торнли (SE2), а для обеспечения контраста между границами доменов, а также визуализации наноразмерных включений – детектор InLens.

2.1.9. Тензиометрия

Метод максимального давления в газовом пузырьке на приборе конструкции П.П. Пугачевича [161] использовался для прецизионных измерений межфазного натяжения (σ) на границе раздела водный раствор НПАВ/воздух. Прибор не требует отдельного манометра для измерения давления в газовом пузырьке (формирующемся на срезе калиброванной трубки), учета глубины погружения калиброванной трубки в раствор, величины капиллярного поднятия или депрессии жидкости в манометрическом резервуаре. Поверхностное натяжение рассчитывается по формуле [161]:

$$\sigma = 0.5g\rho h_0X, \quad (16)$$

где g – ускорение силы тяжести, ρ – плотность исследуемой жидкости, X – эффективный радиус калиброванной трубки, рассчитанный с помощью таблиц Сагдена методом последовательных приближений, h_0 – расстояние от среза калиброванной трубки до положения границы раздела фаз в манометрическом резервуаре, отвечающего максимальному давлению в газовом пузырьке.

Для определения плотности растворов использовался двухкапиллярный пикнометр конструкции П.П. Пугачевича, позволяющий измерять ρ с точностью ± 0.00025 г/см³. Точность определения σ составляла ± 0.05 мН/м. Время формирования межфазной поверхности варьировали от 2 до 60 мин. Термостатирование осуществляли в воздушном термостате с принудительным перемешиванием воздуха с точностью $\pm 0.2^\circ\text{C}$.

Методика измерений и расчетов подробно описана нами в [73].

Измерение межфазного натяжения на границах раздела фаз вода/неполярная жидкость проводили методом висящей капли, которую фотографировали при помощи цифровой видеокамеры DCM-130, встроенной в горизонтальный микроскоп. Значения σ рассчитывали с помощью программного пакета Drop Shape Analysis (Kruss) методом численного интегрирования уравнения Юнга-Лапласа при максимально возможном совпадении рассчитанного и экспериментально полученного профилей капли. Данная модификация метода предложена в работе [162]. Время формирования капли может варьироваться от нескольких минут до нескольких часов.

2.1.10. Реологические методы

Реологические свойства систем изучали с помощью реометра RheoStress1 (ThermoHaake, Германия) с термостатируемой измерительной ячейкой конус–плоскость (диаметр основания конуса – 60 мм, угол при вершине конуса – 2° , зазор между конусом и плоскостью – 0.104 мм). Испытания проводили при 20°C в следующих режимах:

1. В стационарном режиме при контролируемом увеличении скорости деформации ($d\gamma/dt$) получали кривые течения ($\tau = f(d\gamma/dt)$, где τ – напряжение сдвига) и кривые вязкости ($\eta = f(d\gamma/dt)$). Здесь и далее под термином деформация (γ) подразумевается относительная деформация;
2. В режиме ползучесть–восстановление при постоянном приложенном напряжении сдвига ($\tau_c = \text{const}$) и снятии напряжения ($\tau_c = 0$), т.е. в режиме ползучесть–восстановление, получали зависимости деформации от времени $\gamma = f(t)$. Измерения проводили в области линейной вязкоупругости;

3. В динамическом режиме при воздействии осциллирующего напряжения сдвига $\tau = \tau_0 \sin(\omega t)$, вызывающего осциллирующую деформацию $\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t + \delta)$, где τ_0 , γ_0 , ω и δ – соответственно амплитуды колебаний напряжения и деформации, угловая частота колебаний и угол сдвига фаз между напряжением и деформацией. Динамический режим позволяет получать частотные зависимости различных модулей: комплексного ($G^* = G' + iG''$, где $i = \sqrt{-1}$), накопления ($G' = G^* \cos \delta$) и потерь ($G'' = G^* \sin \delta$). Отношение модулей потерь и накопления определяет величину тангенса потерь $\tan \delta = G''/G'$, которая позволяет оценить вклад упругой и вязкой составляющих в реологические свойства исследуемого образца [163].

2.1.11. Прецизионная турбидиметрия

Для определения растворимости липофильных веществ в воде и в водных растворах НП АВ в рамках данной работы была разработана методика прецизионной турбидиметрии [164, 165]. Данная методика позволяет с высокой точностью изучать кинетику солюбилизации и получать равновесные значения растворимости. Показана ее эффективность для определения растворимости (солюбилизации) липофильных НП АВ с низкими значениями ГЛБ и перфтордекалина в водных мицеллярных растворах гидрофильных НП АВ, для определения солюбилизационной емкости мицелл Твин 80 относительно толуола [164–173].

Суть данной методики сводится к следующему. Точную навеску исследуемого липофильного вещества диспергируют при ультразвуковом воздействии (диспергатор УЗДН, Россия) в воде или в водном растворе ПАВ. Из этой эмульсии готовят серию предельно разбавленных эмульсий с известными молярными концентрациями исследуемого липофильного вещества. Разбавление осуществляют раствором ПАВ данной концентрации. Серия может включать как истинные растворы солюбилизата, так и предельно разбавленные тонкодисперсные эмульсии. Эти эмульсии должны быть агрегативно и седиментационно устойчивы. Если данное ПАВ поглощает в определенном интервале длин волн (λ), то при значениях λ за пределами области поглощения для истинных растворов солюбилизата оптическая плотность равна нулю. Если же концентрация солюбилизата превышает

его растворимость в данном растворителе, то избыточное количество (сверх растворимости) находится в ультрадисперсном состоянии, то есть в виде предельно разбавленной эмульсии. При этом возникает рассеяние света частицами эмульсии, то есть наблюдается опалесценция (мутность) и повышение оптической плотности. Дифференциальные спектры (относительно раствора ПАВ соответствующей концентрации без солюбилизатора) регистрируют в широком диапазоне длин волн 200–1100 нм через определенные интервалы времени (t) с момента приготовления эмульсий (например, см. рис. 13). Показано, что для предельно разбавленных тонкодисперсных эмульсий солюбилизатора при $\lambda = \text{const}$ оптическая плотность линейно зависит от его молярной концентрации: $A = -\alpha + \beta C$ (где α и β – положительные численные коэффициенты). Экстраполируя зависимость $A(C)$ к нулевому значению оптической плотности, определяют растворимость солюбилизатора в водном растворе ПАВ данной концентрации при данном t : $S = C_{A \rightarrow 0} = \alpha/\beta$. Аналогично определяют значения S при нескольких длинах волн и вычисляют среднее значение растворимости при данном значении времени (рис. 14).

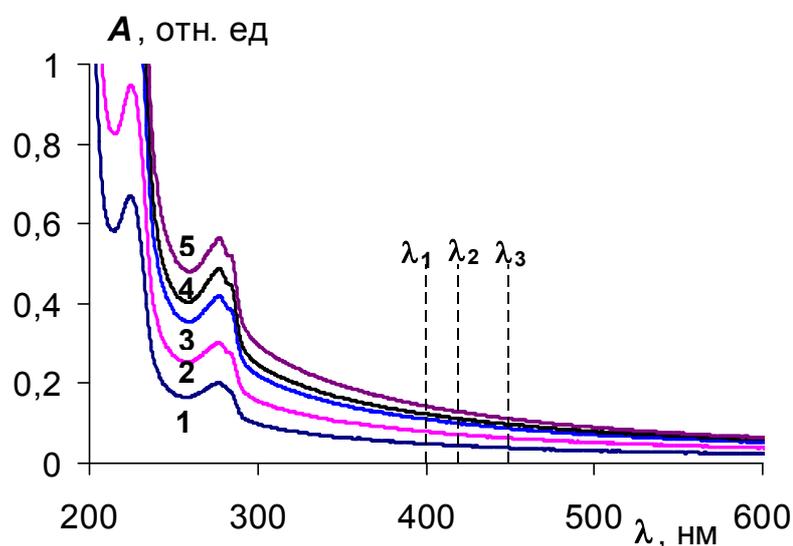


Рис. 13. Спектры ультрадисперсных разбавленных эмульсий липофильного Неонола АФ9-4 ($C_{\text{АФ9-4}} = 0.076\text{--}0.177$ мМ) в 0.05 мМ водном растворе гидрофильного Неонола АФ9-12 через 2.5 ч после приготовления эмульсий: $C_{\text{АФ9-4}} = 0.076$ (1), 0.111 (2), 0.137 (3), 0.152 (4) и 0.177 мМ (5) [153]. Спектры получали относительно 0.05 мМ водного раствора Неонола АФ9-12.

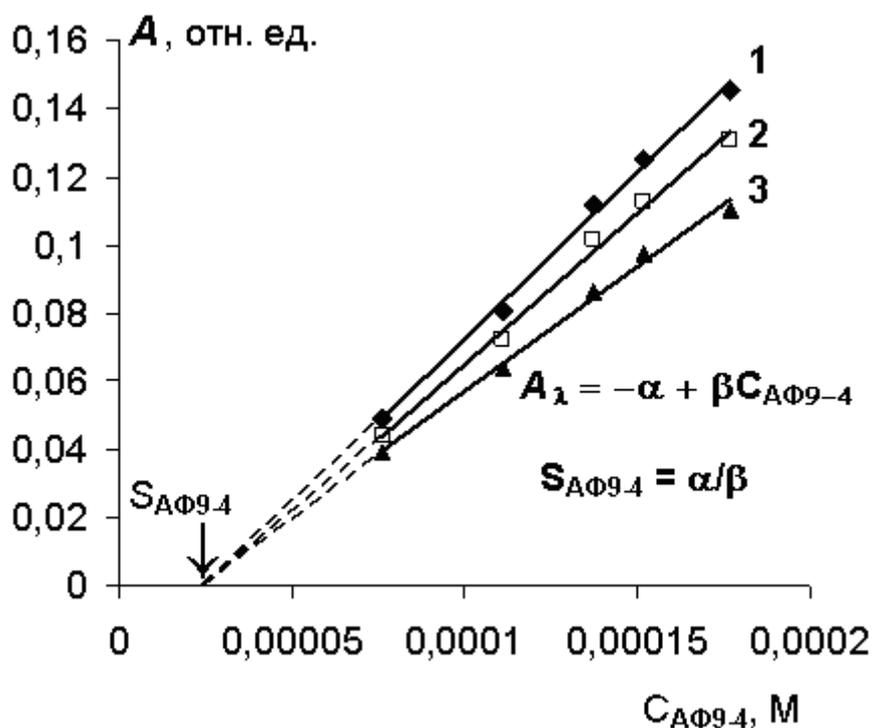


Рис. 14. Зависимости оптической плотности (A) эмульсий Неонола АФ9-4 в 0.05 мМ водном растворе Неонола АФ9-12 от концентрации липофильного НПАВ (через 2.5 ч после приготовления эмульсий) при различных длинах волн: $\lambda = 400$ (1), 420 (2) и 450 нм (3).

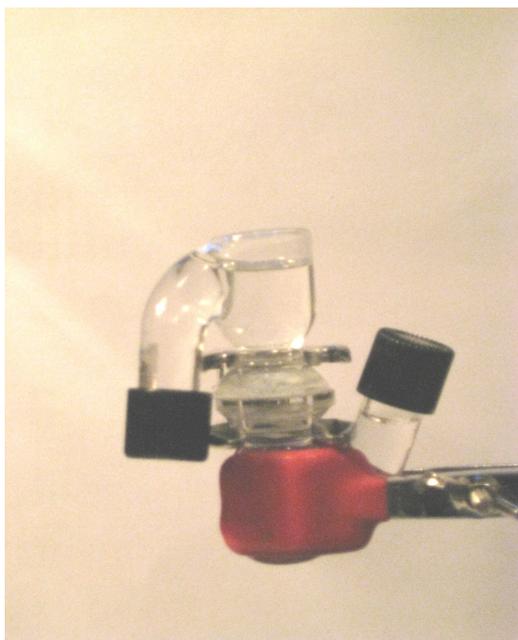
Для данной серии разбавлений спектры регистрируют через определенные интервалы времени и аналогичным образом вычисляют значения растворимости при разных значениях t , строят график зависимости $S(t)$. Измерения проводят до установления равновесия ($S = \text{const}$).

Спектрофотометрические измерения проводились на однолучевом спектрофотометре Agilent 8453 (USA). Для измерений использовались кварцевые кюветы толщиной 1 см. Точность определения оптической плотности (A) составляла $\pm 1 \cdot 10^{-4}$.

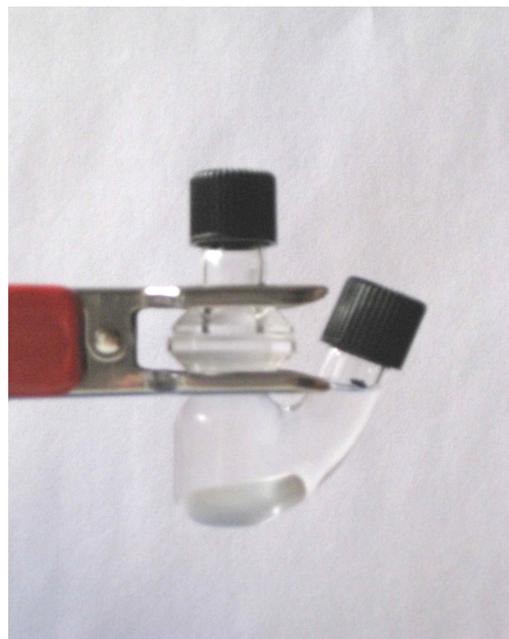
2.1.12. Определение массопереноса лекарств их жидких дисперсных систем и полимерных матриц

Измерения скорости диффузии лекарства из жидких образцов и пленок проводили с помощью диффузионных ячеек Франца, представленных на рис. 15 (а, б). Между донорной и акцепторной частями ячейки находится отверстие

(площадью 0.71 см^2), на которое помещают мембрану (или кожу человека, *in vitro*), через которую идет диффузия целевого компонента в приемную среду. Испытуемые жидкие образцы помещали в донорскую часть ячейки Франца (рис.15а). Пленки наклеивали на мембрану (или кожу) таким образом, чтобы она отделяла пленку от приемной среды (рис. 15б). В акцепторную часть ячейки помещали магнитную мешалку.



а)



б)

Рис. 15. Диффузионные ячейки Франца для определения скорости массопереноса целевого компонента (Лк или белка) через мембрану из жидких образцов (а) и пленок (б).

В качестве мембраны использовались:

- Мембрана MF-Millipore из биологически инертной смеси эфиров целлюлозы (ацетата и нитрата целлюлозы). Диаметр пор – 220 нм, толщина мембраны 150 мкм, пористость – 75 %. Площадь мембраны в ячейке составляла 5.3 см^2 . Мембраны подобного типа используются для анализа скорости выделения лекарства из микроэмульсий [174];
- Керамическая мембрана на основе $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Диаметр пор мембраны 50 нм, толщина 100 мкм, пористость соответствует плотной гексагональной упаковке пор (~10 %). Мембрана площадью 0.26 см^2 вмонтирована в металлическую пластинку размерами $2.5 \times 2 \text{ см}$. Она использовалась при исследовании потока

лекарства из микроэмульсий. Данная мембрана любезно предоставлена доцентом А.А. Елисеевым (факультет наук о материалах при МГУ им. М. В. Ломоносова).

В опытах *in vitro* использовались образцы кожи человека, проницаемость которых предварительно тестировалась на стандартном Лк – окситроле; оценивалась скорость его трансдермального массопереноса. Как правило, применяли кожу средней проницаемости, для которой значения скорости массопереноса окситрола находились в диапазоне 2.8–3.3 мкг/(см²·с).

В акцепторную часть ячейки помещали известный объем (как правило, 7.5 см³) приемной среды. Эта среда должна хорошо растворять целевой компонент. В качестве приемной среды использовали:

- для лекарств (фелодипина и амлодипина) – бинарный растворитель вода/этанол (60/40, по массе) [175];
- для амлодипина – 0.005 М фосфатного буфера, содержащего 0.01% NaN₃ (рН = 6.0);
- для глобулярного белка (лизоцима) – водный раствор фосфатного буфера (0.025М КН₂РО₄, 0.025М Na₂НРО₄, рН = 6.86).

Концентрацию целевого компонента (С_к) в приемной среде оценивали с помощью УФ-спектроскопии. В случае Лк отбирали пробу приемной (примерно 2.7 см³), переносили ее в спектрофотометрическую кювету, а после измерения сразу возвращали в акцепторную часть ячейки Франца. В случае белка пробу объемом 30–50 мкл отбирали с помощью дозатора и в спектрофотометрической кювете разбавляли приемной средой, после измерений пробу не возвращали в ячейку Франца, что учитывали при расчетах. Значения длины волны (λ_{\max}), соответствующей максимуму поглощения целевого компонента в приемной среде, и молярного коэффициента экстинкции E_{\max} определяли заранее (приложение 1). Значения С_к рассчитывали с помощью соотношения:

$$C_K = (A_{\max}/E_{\max})P, \quad (17)$$

где A_{\max} – оптическая плотность при λ_{\max} , P – разбавление образца.

В случае амлодипина в опытах на коже его концентрацию в приемной среде определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Данные ВЭЖХ получены М.Ю. Горшковой (Институт нефтехимического синтеза

имени А.В. Топчиева РАН), на их основе нами рассчитывались параметры трансдермального массопереноса Лк.

Количество целевого компонента Q_K ($\text{мкг}/\text{см}^2$), выделившееся из тестируемой полимерной матрицы (пленки) и прошедшее через единицу площади поверхности мембраны (или кожи) за время t , рассчитывали следующим образом:

$$Q_K = C_K V / S_0, \quad (18)$$

где C_K – экспериментально определенная концентрация целевого компонента ($\text{мкг}/\text{см}^3$) в приемной среде на момент времени t ; V – объем приемной среды в см^3 и S_0 – площадь, через которую идет диффузия, равная площади отверстия ячейки Франца. При использовании мембраны с размером пор 50 нм $S_0 = 0.26 \text{ см}^2$.

Опыты повторяли 5–6 раз, вычисляли средние значения Q_K . Из зависимостей $Q_K(t)$ определяли скорости диффузионного массопереноса целевого компонента через мембрану (или кожу).

2.1.13. Определение ферментативной активности

Ферментативную активность (ФА) лизоцима определяли по кинетике деградации стенок бактериальных клеток под действием данного фермента [176–178]. В качестве бактериального субстрата использовали порошок клеток *Micrococcus Lysodeikticus* фирмы Sigma. Суспензию биомассы в фосфатном буфере ($\text{pH} = 6.86$) использовали при условии, что ее оптическая плотность при 450 нм (A_{450} , относительно фосфатного буфера) была не ниже 0.6.

При введении лизоцима в суспензию в результате ферментативной реакции, заключающейся в гидролизе полисахаридных стенок бактерий, наблюдается уменьшение оптической плотности. Оптическую плотность суспензии при 450 нм (A_{450}) измеряли через каждые 10 с в течение 2-х мин, далее – через каждые 30 с (рис. 16). Максимальную скорость гидролиза $V_0 = \lim(-\partial A_{450}/\partial t)_{t \rightarrow 0}$, которая является мерой ФА, определяли по начальному линейному участку зависимости A_{450} от времени (рис. 16). В отсутствие добавок лизоцима оптическая плотность суспензии клеток A_{450} не зависела от времени.

При определении ФА использовали двулучевой спектрофотометр Helios Zeta UV-VIS («Thermo Scientific Inc.»), который позволяет автоматически измерять оптическую плотность во времени при фиксированной длине волны. В качестве

раствора сравнения применяли растворы идентичного состава без целевого компонента.

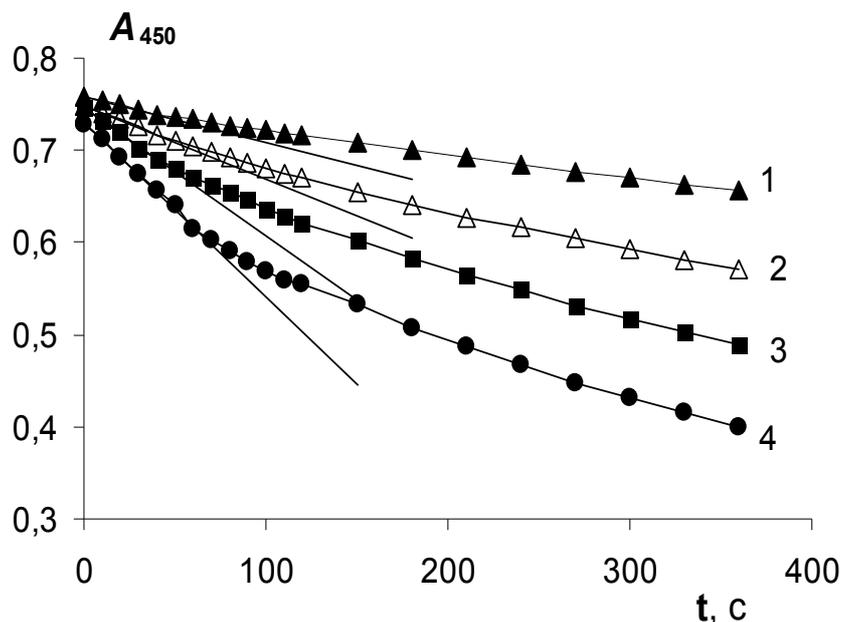


Рис. 16. Уменьшение во времени оптической плотности A_{450} суспензии бактериальной культуры *Micrococcus lysodeikticus* в фосфатном буфере (pH = 6.86) при различных концентрациях лизоцима: $C_{Лз} = 1,065 \cdot 10^{-8}$ (1), $2,13 \cdot 10^{-8}$ (2), $3,25 \cdot 10^{-8}$ (3), $5,09 \cdot 10^{-8}$ М (4). Исходная концентрация бактериальных клеток $0,120 \text{ мг/см}^3$.

Важно подчеркнуть, что концентрацию фермента можно определять по его ФА, что требует соблюдения определенных условий. Известно, что кинетика ферментативных реакций определяется соотношением субстрат/фермент. Полученные зависимости начальных скоростей лизиса V_0 от начальных концентраций фермента и суспензии клеток можно разделить на три основных типа [179]:

1) при низкой концентрации фермента и высокой концентрации субстрата наблюдается линейная зависимость V_0 от концентрации фермента и гиперболическая зависимость от концентрации клеток;

2) при сопоставимых количествах фермента и субстрата начальная скорость лизиса не является прямо пропорциональной концентрации фермента;

3) при концентрациях лизоцима, превышающих концентрацию субстрата, величина V_0 линейно зависит от концентрации бактериальной суспензии и почти не зависит от концентрации фермента.

Таким образом, только первая концентрационная область, когда концентрация субстрата является преобладающей и функция $V_0(C_{Лз})$ линейна, подходит для количественного определения концентрации лизоцима по ФА. Для исследованных нами систем концентрация суспензии субстрата составляла 0.012 масс. %, что в 164–786 раз превышает концентрацию фермента. Суспензию бактериальных клеток в буферном растворе готовили непосредственно перед кинетическим экспериментом.

Линейная калибровочная зависимость $V_0 = k_0 C_{Лз}$ (где $k_0 = 36200 \pm 100 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$) использовалась для оценки концентрации Лз в приемной среде в ячейке Франца при изучении кинетики выделения фермента из разработанных полимерных матриц.

2.1.14. Методики получения эмульсий и полимерных матриц

Эмульсии В/М и М/В готовили весовым методом из заранее приготовленных растворов стабилизирующих НПВВ и полимеров в воде и в соответствующем неполярном растворителе. Эмульгирование проводили с помощью ультразвукового диспергатора УЗДН-А (Россия, частота 22 кГц) в ячейке, охлаждаемой водой. Время диспергирования – 30 с. В некоторых случаях диспергировали при перемешивании на магнитной мешалке, при этом эмульсия находилась в герметически закрытом пузырьке.

Двойные эмульсии $M_1/V/M_2$ получали в две стадии. На первой стадии готовили миниэмульсию M_1/V при ультразвуковом диспергировании в присутствии гидрофильных стабилизаторов и ингибиторов ОС, на второй применяли осторожное перемешивание миниэмульсии с раствором липофильного полимерного адгезива (M_2).

При формировании полимерных матриц из эмульсий в качестве подложки применяли полиэтилентерефталат (ПЭТ, марки Loraгex 7300A), который применяется в трансдермальных пластырях в качестве удаляемой перед употреблением пленки. ПЭТ Loraгex 7300A имеет неадгезионную (силиконизированную) и адгезионную стороны. Гидрофобность двух различных поверхностей ПЭТ оценивали по значению краевого угла смачивания водой (Θ_{H_2O}). Краевые углы смачивания измеряли с помощью горизонтального микроскопа,

снабженного фотокамерой. Точность измерений составляла $\pm 1^\circ$. Значения $\theta_{\text{H}_2\text{O}}$ для адгезионной и неадгезионной сторон ПЭТ при 20°C соответственно составляли 93° и 105° .

Из эмульсий методом полива при использовании ракли, гарантирующей толщину нанесения (250, 375, 500 или 625 мкм), на силиконизированной поверхности ПЭТ получали тонкие слои эмульсий (жидкие пленки). Как правило, толщина нанесения составляла 500 или 625 мкм. Сушка пленок осуществлялась при $40\text{--}50^\circ\text{C}$ в течение 30–60 мин в сушильном шкафу Binder (Germany) с горизонтальным потоком воздуха. Схема получения пленок представлена на рис. 17.

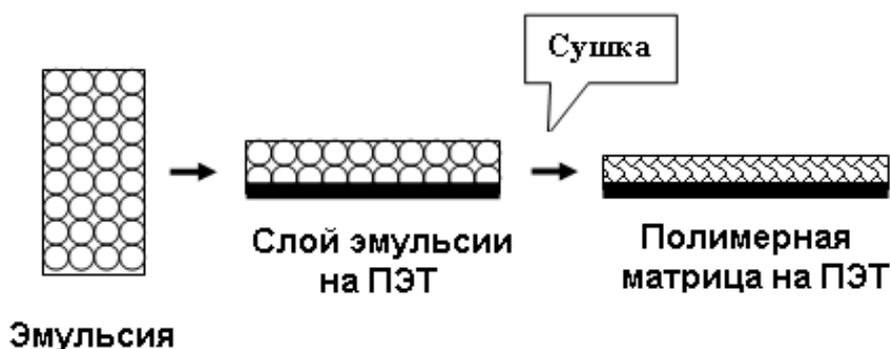


Рис. 17. Схема, иллюстрирующая получение полимерной матрицы из эмульсии методом полива.

Остаточное содержание органического растворителя (гептана, этилацетата, толуола, циклогексана) определяли с помощью газовой хроматографии (ГХ). Анализ проводили на модифицированном хроматографе ЛХМ-8МД с использованием капиллярной колонки длиной 28 м и внутренним диаметром 0.32 мм со слоем неподвижной жидкой фазы SE-54 толщиной 3.5 мкм. Газ-носитель – гелий, давление на входе в колонку составляло 0.9 атм. Использовался дозатор-инжектор с делением потока газа-носителя 1:50. Детектор – пламенно-ионизационный, шкала электрометра $(5\text{--}20) \cdot 10^{-12}$ А.. Например, к образцам пленок весом около 20 мг добавляли 480 мкл бензола (при определении толуола) или октана (при определении циклогексана), перемешивали при 50°C в течение 20 мин.

Во всех случаях объем пробы составлял 0.5 мкл. Для калибровки использовались 0.1 об. % растворы толуола в бензоле или циклогексана в октане. Концентрацию толуола (или циклогексана) определяли по высотам соответствующих пиков в 5–7 опытах. ГХ анализы выполнены А.А. Королевым (Институт нефтехимического синтеза имени А.В. Топчиева РАН). Содержание органического растворителя в пленке после сушки во всех случаях не превышало 0.3 масс. %, что отвечает требованиям к ТП.

Высушенные полимерные матрицы ламинировали базовой пленкой (Scotch Pak 9732). Толщины полимерных матриц после сушки определяли с помощью микрометра с учетом толщин базовой и удаляемой пленок. Полученные ТП хранили в запаянных фольгированных пакетиках.

2.2. Объекты исследования

2.2.1. Липофильные лекарства

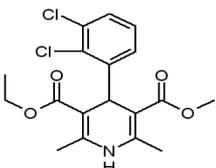
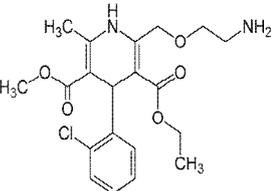
Основные исследования выполнены на примере фелодипина и амлодипина (в форме оснований), являющихся современными лекарствами от гипертонии и стенокардии, блокаторами кальциевых каналов [180].

Структурные формулы фелодипина (Ф – (RS)-3-этил 5-метил 4-(2,3-дихлорфенил)-2,6-диметил-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоксилат) и амлодипина (Ам – (RS)-3-этил 5-метил 2-[(2-аминоэтокси)метил]-4-(2-хлорофенил)-6-метил-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоксилат) приведены в табл. 5. Оба Лк липофильны, плохо растворимы в воде (особенно Ф), биодоступность при пероральном применении для Ф и Ам составляет соответственно 20 и 60%. Оба препарата электронейтральны, стабильны в растворе, их растворимость не зависит от pH, молекулярная масса не превышает 500 Да. Перечисленные характеристики делают Ф и Ам хорошими модельными Лк при разработке коллоидно-химических основ трансдермальной доставки. При комнатной температуре оба Лк находятся в твердом агрегатном состоянии. В работе использованы Ф фирмы «PCAS» (Финляндия) и Ам фирмы «Afine Chemicals Limited» со степенью очистки 99 %.

Некоторые физические свойства исследованных Лк приведены в табл. 5. Там же представлены значения растворимости Лк в воде и гептане, полученные в

рамках данной работы методом УФ-спектроскопии [181, 182]. Значения растворимости Ф и Ам в воде (табл. 6) хорошо согласуются с литературными данными [180, 184]. Таким образом, фелодипин, содержащий меньшее количество гетероатомов по сравнению с амлодипином (см. табл. 5), гораздо хуже растворяется в воде, чем Ам и, соответственно, является менее биодоступным при медицинском применении.

Таблица 6. Структурные формулы, молекулярная масса (M_w), плотность (ρ), растворимость в воде (S_B) и в гептане (S_G), температура плавления ($T_{пл}$), для липофильных лекарств

Лекарство	Структурная Формула	M_w , Да	$\rho \cdot 10^{-3}$, кг/м ³	S_B , М	S_G , М	$T_{пл}$, °С
Фелодипин		384.2	1.277	$2.2 \cdot 10^{-6}$ [182]	$5.3 \cdot 10^{-4}$ [184]	145 [180]
Амлодипин		408.9	1.227	$2.3 \cdot 10^{-4}$ [183]	$1.3 \cdot 10^{-3}$	178 [180]

2.2.2. Глобулярный белок лизоцим

Лизоцим – N-ацетилмурамид глюканогидролаза (или мурамидаза) относится к глобулярным белкам, обладает ферментативной активностью, катализирует гидролиз β -1.4-гликозидных связей в полисахаридах клеточных стенок бактерий, что приводит к их гибели [185]. Лизоцим (Лз) хорошо растворим в воде, содержится в большинстве биологических жидкостей организма – слюне, слезах, сыворотке крови, мокроте, околоплодных водах, желудочном соке; обнаруживается во многих тканях и органах [186]. В организме человека он выполняет функцию естественного антибактериального барьера, повышающего иммунную защиту.

По сути, Лз является лекарственным препаратом природного происхождения. Антибактериальное действие Лз наиболее выражено проявляется в отношении грамположительных бактерий [185]. По отношению к грамотрицательным микроорганизмам фармакологический эффект препарата проявляется в меньшей степени. Помимо антисептического эффекта, Лз также обладает противовоспалительным, иммуномодулирующим и антитоксическим действием. Лизоцим широко применяется в пищевой промышленности в качестве консерванта, а также в медицине [187, 188]. Он применяется внутримышечно и местно. Местное применение Лз с успехом практикуется при лечении конъюнктивитов, гайморитов, пиодермий различного происхождения (гнойные поражения кожных покровов), пролежнях, трофических язвах, ожогах и обморожениях.

Первичная, вторичная и третичная структуры лизоцима полностью охарактеризованы [189–191]. Он состоит из одной полипептидной цепи со 129 аминокислотными остатками; содержит в своем составе 40 % α -спиралей и 12 % β -структур (рис. 18а); его компактная глобула имеет форму, напоминающую эллипсоид вращения и состоящую из двух доменов (рис. 18б), между которыми расположена область активного центра. В каталитический центр фермента входят депротонированная карбоксильная группа аспарагиновой кислоты и недиссоциированная карбоксильная группа глутаминовой кислоты. В нативном состоянии Лз имеет две дисульфидные связи, дополнительно скрепляющие домены и способствующие компактизации глобулы.

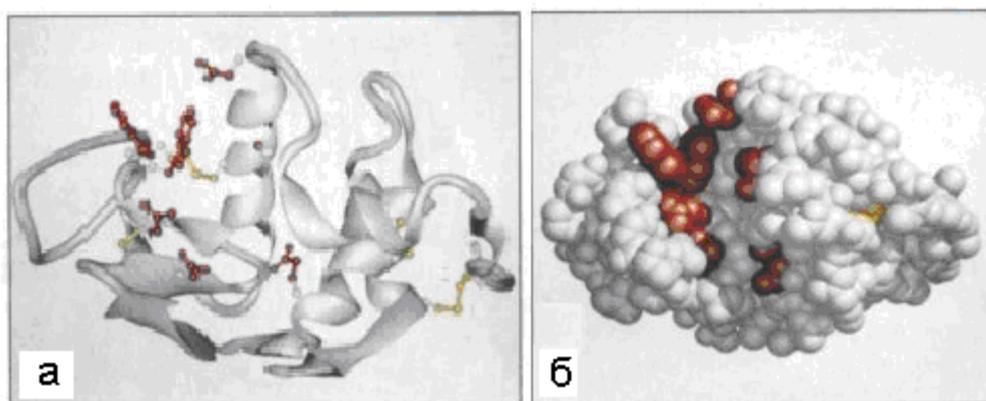


Рис. 18. Вторичная (а) и третичная (б) структуры лизоцима [190]. Стрелки на рис. (а) обозначают β -структуры, спирали – α -спирали белка.

Лз содержит 32 способные к диссоциации функциональные групп, его $pI = 11$, что свидетельствует о положительном заряде макромолекулы в широкой области значений pH. Оптимальная ферментативная активность Лз наблюдается при $pH = 6-7$. В работе использовали лизоцим фирмы Sigma из белка куриных яиц (не менее 99 % основного вещества) с молекулярной массой 14307 Да.

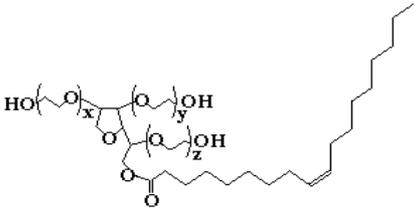
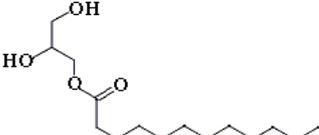
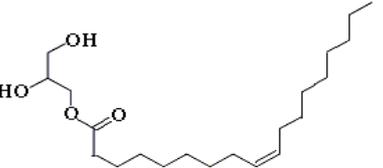
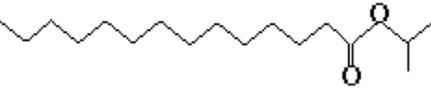
2.2.3. Неионогенные поверхностно-активные вещества

Применение неионогенных поверхностно-активных веществ в композициях медицинского назначения предпочтительнее, нежели ионогенных ПАВ, поскольку они электронейтральны, безопасны, в подавляющем большинстве являются биосовместимыми и характеризуются минимальным связыванием с белками. Структура и некоторые свойства основных использованных в работе НПАВ приведены в табл. 7.

В качестве гидрофильного НПАВ был выбран полиоксиэтилированный (20) моноолеат сорбитана (Твин 80, Тв), образующий мицеллы в водной среде. Данное НПАВ характеризуется очень низким значением ККМ (табл. 7), что гарантирует сохранение мицелл (носителей лекарства) в организме, когда происходит существенное (в 60–100 раз) разбавление. Кроме того, Тв отличает чрезвычайно низкая гемолитическая активность [192], т. е. практическое отсутствие гемолиза – разрушения эритроцитов крови, сопровождающееся выходом из них гемоглобина. В рамках данной работы было проведено комплексное исследование свойств Тв [193–198], препарат фирмы «Sigma» (марки «ч») использовали без дополнительной очистки.

Липофильные НПАВ не обладают способностью к самоорганизации в мицеллы в водных растворах, их характеризуют низкие значения ГЛБ (1.5–9.7) и незначительная растворимость в воде (табл. 7). Значения растворимости в воде (S_b) для ГМЛ и ГМО (эффективные УП кожи) получены в данной работе с помощью методики прецизионной турбидиметрии. Кинетика растворения этих УП приведена на рис. 19, равновесные значения S_b – в табл. 7.

Таблица 7. Структурные формулы, характеристики* и применение использованных в работе НПАВ

Гидрофильное НПАВ					
Название и структурная формула	M_w , Да	ГЛБ	$\rho \cdot 10^{-3}$, кг/м ³	ККМ, М	Применение
Полиоксиэтилен (20) сорбитанолеат (Твин 80®) 	1308	15 [61]	1.082	$1.2 \cdot 10^{-5}$ $4.5 \cdot 10^{-5}$ с NaN_3	Солюбилизатор Стабилизатор эмульсий М/В
Липофильные НПАВ					
Название и структурная формула	M_w , Да	ГЛБ	$\rho \cdot 10^{-3}$, кг/м ³	S_v , М	Свойства
Полиоксиэтилен (4) лауриловый эфир (Бридж 30®, Бр) 	362	9.7 [61]	0.95 (25°C)	$2.3 \cdot 10^{-5}$	Стабилизатор Эмульсий В/М
Глицерилмонолаурат (ГМЛ) 	274.4	5.2	0.997 (20°C)	$3.6 \cdot 10^{-4}$ (37°C) [199]	Усилитель проницаемости кожи, стабилизатор эмульсий В/М
Глицерилмоноолеат (ГМО) 	356.5	3.4	0.969 (20°C)	$4.8 \cdot 10^{-6}$ [200]	Усилитель проницаемости кожи, стабилизатор эмульсий В/М
Изопропилмиристат (ИПМ) 	270.5	1.5	0.850 (20°C)	–	Усилитель проницаемости кожи, стабилизатор эмульсий В/М

* M_w – молекулярная масса; ГЛБ – гидрофильно-липофильный баланс; ρ – плотность; ККМ – критическая концентрация мицеллообразования; S_v – растворимость в воде.

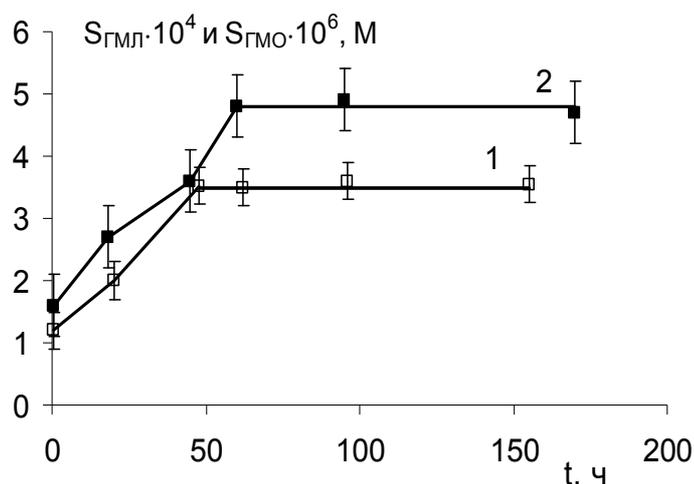


Рис. 19. Кинетика растворения ГМЛ (1) и ГМО (2) в воде при 22°C (по данным турбидиметрии).

Применяли следующие НПАВ: ГМЛ и ГМО фирмы «Dermofeel» (степень чистоты «ч»), Бридж 30 (Бр) и изопропилмиририлат (ИПМ) – Sigma Aldridch (для фармацевтики).

2.2.4. Лимонен

Лимонен (1-метил-4-изопропенилциклогексен-1, рис. 20) – монотерпеновый углеводород, $M_w = 136.14$, $T_{кип} = 176^\circ\text{C}$, растворимость лимонена в воде составляет $1.3 \cdot 10^{-5} \text{M}$ (при 22°C) [201]. В работе использовалось вещество фирмы Fluka Chemika со степенью чистоты 98%. Лимонен является главным компонентом природных цитрусовых масел [202], одобрен FDA для применения в медицине, активно используется при создании трансдермальных композиций.

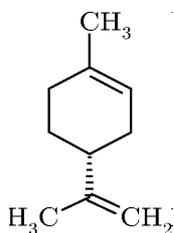


Рис. 20. Структурная формула лимонена.

2.2.5. Полимеры

Гидрофильный полимер – гидроксипропилцеллюлоза (ГПЦ) торговой марки Klucel EF (“Hercules”, USA), являющаяся химически модифицированным полисахаридом (рис. 21) со средневесовой молекулярной массой $M_w = 80$ кДа и степенью замещения 3.8, характеризующей среднее число гидроксипропильных групп на один глюкопиранозный цикл целлюлозы. Известно [203, 204], что ГПЦ проявляет поверхностную активность на границе раздела вода/воздух. Так, поверхностное натяжение ее 0.1% водного раствора составляет 43.6 мН/м [203]. ГПЦ используется в качестве загустителя внешней дисперсионной среды при получении множественных эмульсий $V_1/M/V_2$ [205] и $M_1/V/M_2$ [206].

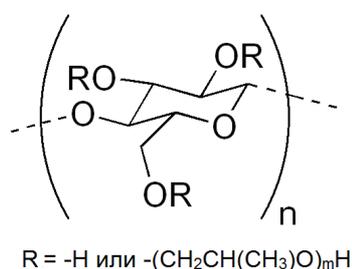


Рис. 21. Структурная формула мономерного звена гидроксипропилцеллюлозы.

Растворы гидрофильных компонентов готовили на трижды дистиллированной воде, удельная электропроводность которой составляла $1.5 \cdot 10^{-4}$ См/м (20°C). Все водные растворы содержали 0.01 масс. % азида натрия для предотвращения деградации компонентов эмульсий под действием бактерий.

Липофильные полимеры:

- ПИБ – смесь полиизобутиленов различной молекулярной массы (51 и 250 кДа) и полибутена (2.5 кДа) в соотношении 5/1/4 (масс.) проявляет хорошую адгезию к коже, относится к классу АЧД [207];
- ДТ – акриловый полимер (Duro-Tak 87900A, National Starch Corp., США), проявляет хорошую адгезию к коже, относится к классу АЧД, используется в трансдермальных системах. Информация о его составе запатентована, известно лишь, что адгезив получен на основе 2-этилгексилакрилата, бутилакрилата, метилметакрилата и N-трет-октилакриламида [208];

- СИС – смесь линейных блоксополимеров стирол–изопрен–стирол и стирол–изопрен с 42 масс. % содержанием диблоксополимера (SIS VECTOR® 4114, Дехсо Polymers, США).

Все использованные в работе ПАВ и полимеры одобрены FDA для применения в медицине.

Все органические растворители были марки «хч».

Глава 3. МИЦЕЛЛЫ НЕИОНОГЕННЫХ ПАВ КАК НОСИТЕЛИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

3.1. Солюбилизация липофильных лекарств в водных мицеллярных растворах неионогенных ПАВ (обзор)

Биодоступность лекарственных препаратов напрямую зависит от их растворимости в воде [209], поскольку человеческий организм примерно на 90 % состоит из воды. Современные лекарства в подавляющем большинстве липофильны [209, 210]. Для повышения их биодоступности, а также защиты от гидролиза и других типов деградации, включая ферментативное разложение, необходим перевод в водорастворимые формы: мицеллы, микроэмульсии, липосомы, ниосомы (липосомы, построенные не из липидов, а из молекул липофильных НПАВ), комплексы включения на основе циклодекстринов, жидкокристаллические частицы и т. д. [81, 211–214].

Солюбилизация липофильных лекарственных веществ в водных растворах ПАВ является одним из эффективных способов иммобилизации лекарства в водной среде [210, 212–214]. Как известно [74], солюбилизация – это заметное повышение растворимости нерастворимых или малорастворимых в воде веществ за счет включения в состав самоорганизованных ансамблей молекул (или ионов ПАВ) – мицелл. Солюбилизация наблюдается в области концентраций водных растворов ПАВ, превышающих критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ).

Неионогенные поверхностно-активные вещества (НПАВ) оказываются более эффективными солюбилизаторами гидрофобных лекарств, нежели ионогенные ПАВ [214], поскольку имеют очень низкие значения ККМ ($\sim 10^{-5}$ – 10^{-4} М), что гарантирует сохранение мицелл (носителей лекарства) при доставке в организм, когда происходит существенное (в 60–100 раз) разбавление. Кроме того, использование НПАВ в медицине обусловлено их стабильностью, биосовместимостью и минимальным связыванием с белками. Полиоксиэтилированные НПАВ, в частности, отличает чрезвычайно низкая гемолитическая активность [192].

Изучение солюбилизации основано на определении растворимости солюбилизата (S) в растворах ПАВ различных концентраций (C). Как правило, в

широком интервале концентраций, превышающих ККМ, изотерма солюбилизации $S(C)$ представляет собой линейную функцию, что служит подтверждением неизменности формы мицелл и позволяет определить их солюбилизационную емкость (СЕ) [215, 216]:

$$CE = (S - S_{\text{ККМ}})/(C - \text{ККМ}) = N_{\text{Сол}}/N = \text{tg}\alpha, \quad (19)$$

где S и $S_{\text{ККМ}}$ - соответственно растворимость солюбилизата в растворе ПАВ данной молярной концентрации C и при ККМ; $N_{\text{Сол}}$ и N - соответственно число молей (молекул) солюбилизата и ПАВ (солюбилизатора) в мицелле; $\text{tg}\alpha$ - тангенс угла наклона линейного участка изотермы солюбилизации к оси абсцисс.

Солюбилизационная емкость прямых мицелл НПАВ относительно лекарственных препаратов в последнее время активно исследуется [217–226]. Величина СЕ зависит от химического строения солюбилизата и солюбилизатора, температуры, рН, ионной силы и во многом определяется местом локализации лекарства в мицелле (углеводородное ядро, полиоксиэтилированный слой (РОЕ-слой) или поверхность) [217–227].

Солюбилизационная емкость мицелл полиоксиэтилированных НПАВ по отношению к липофильным лекарствам (противораковый нарингенин [220], противовоспалительные кетопрофен, дифлюнисал, ибупрофен, напроксен [222] и тимобезон ацетат [227]) увеличивается с ростом длины углеводородной цепи солюбилизатора, но не зависит от размера его РОЕ-цепи. Это связано с увеличением размеров гидрофобного ядра мицелл, в котором локализовано лекарство [220, 222, 227].

Влияние температуры на солюбилизацию лекарства в растворах НПАВ зависит от того, где оно локализовано. Если оно иммобилизовано преимущественно в оксиэтильном слое мицеллы, то увеличение температуры, вызывающее дегидратацию оксиэтильных (ОЕ) групп молекул НПАВ, приводит к уменьшению солюбилизации [218]. Однако в случае лекарств, локализованных в углеводородном ядре мицелл, рост температуры приводит к увеличению СЕ в результате полиморфизма мицелл, приводящего к росту их гидрофобных полостей [228]. Аналогичный эффект наблюдается при добавлении электролитов, вызывающих дегидратацию РОЕ-цепей НПАВ и возрастание чисел агрегации [229].

В работе [224] сделана попытка анализа данных по солюбилизации антибиотика эритромицина в водных растворах полиоксиэтилированных спиртов жирного ряда (Бриджей 35, 56, 58) с учетом литературных данных о числах агрегации мицелл исследованных НПAB в отсутствие солюбилизата. Однако следует отметить, что присутствие солюбилизата в мицелле может существенно изменить ее свойства: числа агрегации (N , то есть число молекул ПАВ в мицелле), размер (R_h – гидродинамический радиус) и степень гидратации, которая характеризуется толщиной оксиэтильного слоя мицеллы (h_{OE}) или числом молекул воды, приходящихся на одну оксиэтильную группу НПAB (n_{OE}) [153, 170, 173].

Таким образом, имеющиеся в литературе работы по солюбилизации Лк практически не исследуют свойства самопроизвольно возникших в результате солюбилизации двухкомпонентных мицелл (НПАВ + Лк). Вместе с тем, такая информация имеет первостепенное значение для прогнозирования возможностей доставки лекарственных веществ с помощью мицелл. Нет данных о солюбилизации лекарственных препаратов в смешанных мицеллах на основе гидрофильного мицеллообразующего и липофильного немиецеллообразующего НПAB в водной среде. Поскольку липофильные НПAB зачастую являются эффективными усилителями проницаемости (УП) кожи [230], то трехкомпонентные мицеллы (НПАВ+УП+Лк) могут оказаться перспективными носителями активных компонентов при трансдермальной доставке.

В задачи данной работы входила экспериментальная и теоретическая оценка способности мицелл служить в качестве «носителя» липофильного лекарства в водной среде на основе комплексного изучения свойств двух- (НПАВ+Лк, НПAB+УП) и трехкомпонентных (НПАВ+УП+Лк) мицелл на основе Твин 80.

3.2. Свойства двух- и трехкомпонентных мицелл Твин 80 с солюбилизированными лекарством и усилителем проницаемости кожи

Солюбилизация лекарств (фелодипина и амлодипина) в водных мицеллярных растворах Твин 80 была исследована с помощью УФ-спектроскопии, а солюбилизация усилителей проницаемости кожи ГМЛ и ГМО – методами рефрактометрии и прецизионной турбидиметрии.

На рис. 22 представлены кинетические зависимости солубилизации ГМО в водных растворах Твин 80 различных концентраций, из которых видно, что время достижения равновесия уменьшается с ростом концентрации НПАВ. Рис. 23 иллюстрирует результаты рефрактометрических измерений для растворов Твин 80 с солубилизированным ГМЛ (после установления равновесия) и без него. Спектры поглощения фелодипина и амлодипина в насыщенных Лк растворах Твин 80 (по достижении равновесия) представлены на рис. 24 и 25, соответственно.

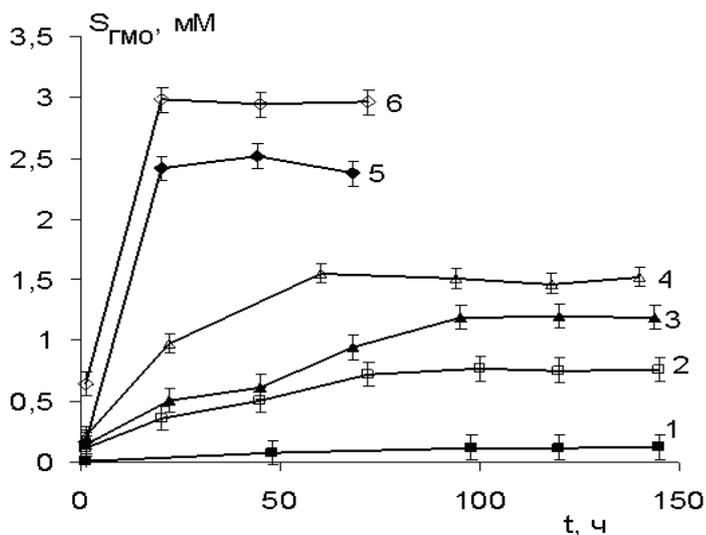


Рис. 22. Кинетика солубилизации ГМО в водных растворах Твин 80 различных концентраций: $C_{ТВ} = 0.5$ (1), 3.5 (2), 5 (3), 7 (4), 10 (5) и 12 мМ (6).

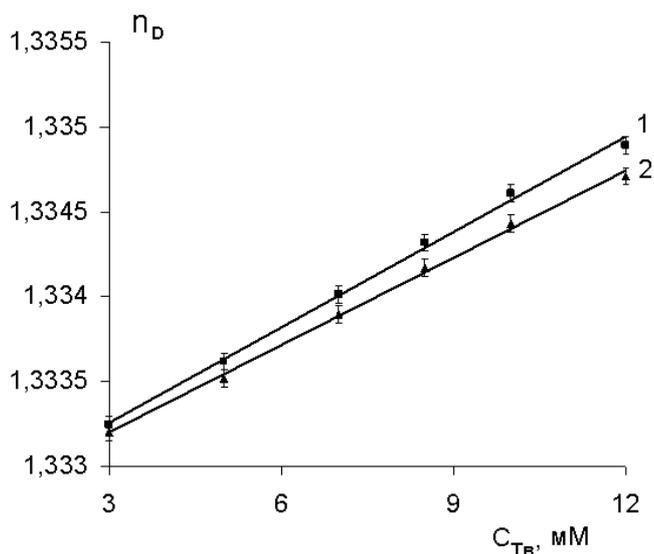


Рис. 23. Значения показателей преломления n_D (при $\lambda = 587.6$ нм) водных растворов Твин 80 с солубилизированным ГМЛ (1, после установления равновесия – через 10 сут) и без него (2).

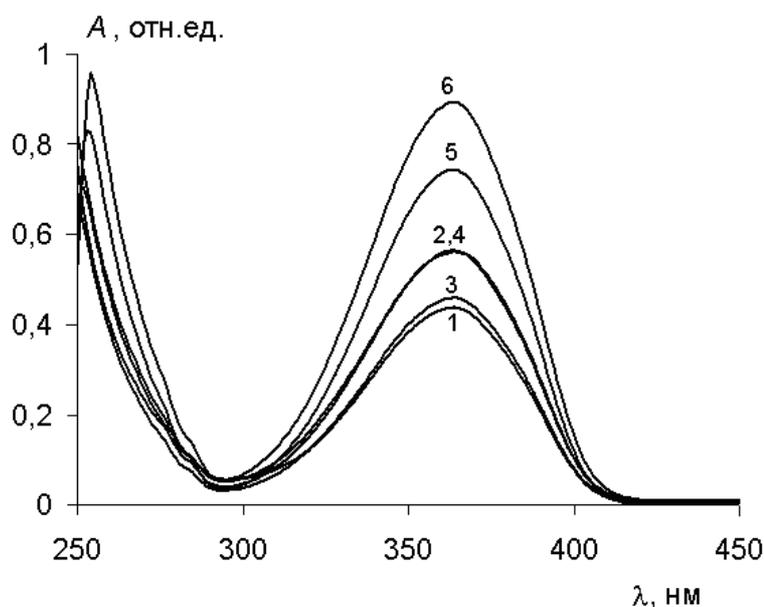


Рис. 24. Спектры поглощения фелодипина, солюбилизированного в водных мицеллярных растворах Твин 80 различных концентраций (через 12 сут): $C_{Тв} = 0.5$ (1), 3.5 (2), 5 (3), 7 (4), 10 (5) и 12 мМ (6). Пробы растворов Тв с Ф, кроме 0.5 мМ, разбавляли растворами Твин 80 соответствующих концентраций без Ф: 3.5 мМ – в 5 раз, 5–12 мМ – в 10 раз. Для расчетов $S_{Ф}$ использовали E_{max} для Ф в 5 мМ растворе Тв (табл. 5).

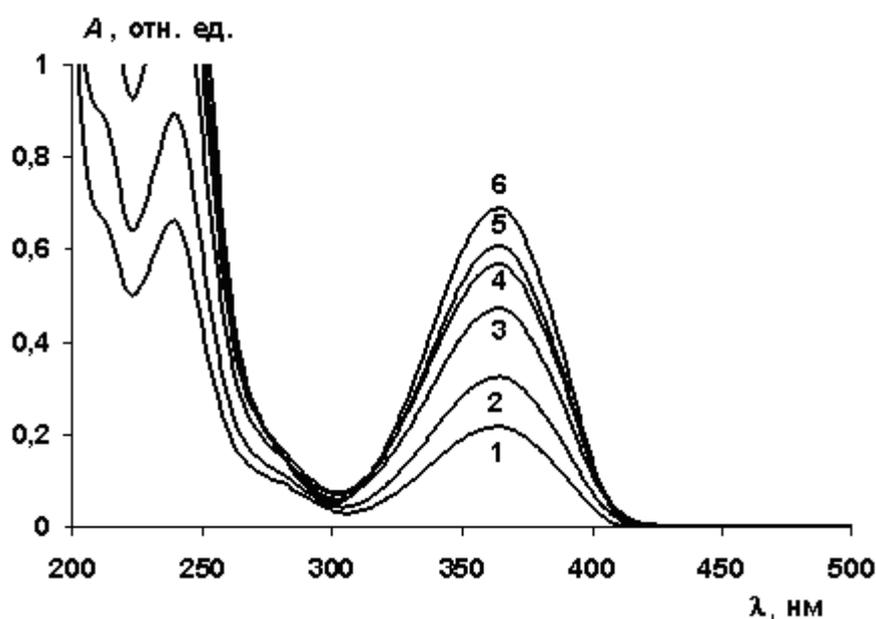


Рис. 25. Спектры поглощения для определения солюбилизации амлодипина в водных мицеллярных растворах Твин 80 различных концентраций (через 10 сут): $C_{Тв} = 3$ (1), 5 (2), 7 (3), 8.5 (4), 10 (5) и 12 мМ (6). Пробы разбавлены в 50 раз растворами Твин 80 соответствующих концентраций без Ф. Для расчетов S_{Am} использовали E_{max} для Ам в 5 мМ растворе Тв (табл. 5).

На основе данных, представленных на рис. 22–25, определены равновесные значения растворимости для всех исследованных солюбилизатов в водных мицеллярных растворах Твин 80 и получены изотермы солюбилизации $S(C_{Тв})$ (рис. 26). Следует отметить хорошее согласование данных турбидиметрии и рефрактометрии для солюбилизации ГМО (рис. 26). При изучении совместной солюбилизации, когда мицеллы Твин 80 содержат два солюбилизата (усилитель проницаемости кожи и лекарство), растворы готовили путем поэтапного насыщения (вначале УП (Сол1), потом Лк (Сол2)). На рис. 27 (а, б) приведены изотермы солюбилизации Лк в растворах Твин 80, предварительно насыщенных УП.

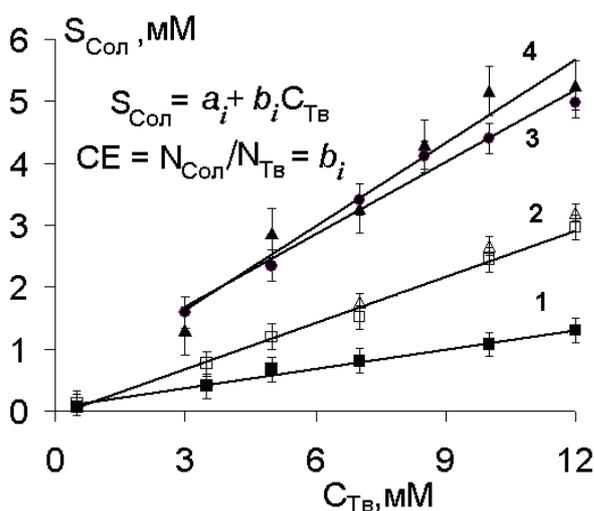


Рис. 26. Равновесные изотермы солюбилизации Ф (1), ГМО (2: Δ – рефрактометрия, \square – турбидиметрия), Ам (3) и ГМО (4) в водных мицеллярных растворах Твин 80 при 22°C.

Растворимость солюбилизатов возрастала при увеличении концентрации мицеллообразующего НПАВ. Например, для фелодипина при $C_{\text{Тв}} = 12$ mM величина $S_{\text{Ф}}$ превышает его растворимость в воде (см. табл. 6) в ~ 580 раз, а в растворе Тв, насыщенном ГМО, – в ~ 725 раз. При такой же концентрации Твин 80 солюбилизация ГМО возрастает в ~ 600 раз по сравнению с растворимостью в воде (табл. 7).

Изотермы $S(C_{\text{Тв}})$ линейны во всех случаях, что позволяет рассчитать солюбилизационную емкость мицелл Твин 80 относительно исследованных солюбилизатов. По данным, приведенным на рис. 26, рассчитаны значения CE для

мицелл с одним солюбилизатором, которые составили 0.10, 0.25, 0.39 и 0.45 моль солюбилизата/моль солюбилизатора (или молекула/молекулу) для Ф, ГМО, Ам и ГМЛ, соответственно. Возрастание СЕ коррелирует с увеличением растворимости солюбилизата в воде (табл. 6 и 7). В присутствии УП солюбилизационная емкость мицелл относительно лекарства, т.е. соотношение $N_{Лк}/N_{ТВ}$, возрастает для Ф и Ам соответственно на 30 и 44 % (рис. 27).

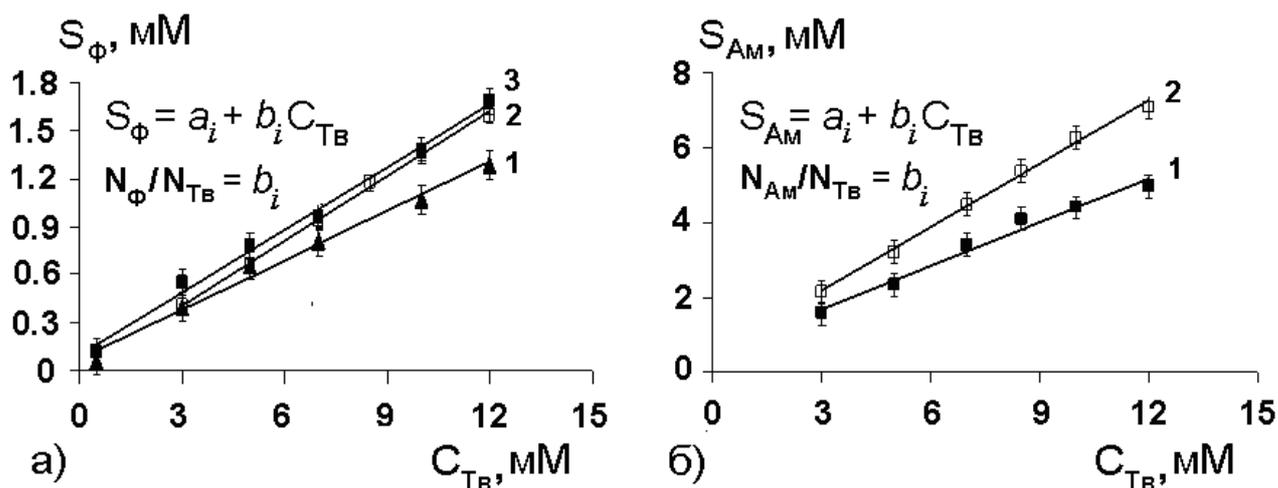


Рис. 27 (а, б). Растворимость Лк в водных мицеллярных растворах Твин 80 без УП и предварительно насыщенных УП (22°C): 1а – Ф; 1б – Ам; 2а – Ф с ГМЛ; 3а – Ф с ГМО; 2б – Ам с ГМЛ.

Исследование солюбилизации позволяет найти лишь соотношение компонентов в мицелле. Свойства мицелл в водной среде изучали методами СРС и ДРС.

Значения средней массы мицелл (M_m) определяли по данным СРС и уравнению Дебая [156, 231, 232]:

$$K_0 \Delta C / (2\Delta R_{90}) = F_D = 1/M_m + 2A_2 \Delta C, \quad (20)$$

где F_D – функция Дебая; A_2 – вириальный коэффициент; $\Delta C = (C - K_{KM})$ – концентрация вещества, находящегося в мицеллярном состоянии ($г/см^3$), для растворов ПАВ с солюбилизатором – это суммарная концентрация ПАВ и солюбилизата; $\Delta R_{90} = (R_{90,C} - R_{90,KKM})$ – вклад мицелл в рассеяние света; K_0 – оптическая постоянная раствора [156]:

$$K_0 = 4\pi^2 n_0^2 (dn_\lambda/dC)^2 / (N_A \lambda^4), \quad (21)$$

где n_0 и dn_λ/dC – соответственно показатель преломления растворителя (воды) и инкремент показателя преломления раствора при длине волны падающего света $\lambda = 632.8$ нм; N_A – число Авогадро.

Значения показателей преломления при $\lambda = 632.8$ нм ($n_{632.8}$) для растворов ПАВ определяли из экспериментальной зависимости $n_\lambda(\lambda)$, полученной на рефрактометре ИРФ-23 при различных длинах волн (486.1, 589.3 и 656.3 нм). Инкремент показателя преломления раствора $dn_{632.8}/dC_\Sigma$ оценивали из линейной зависимости $n_{632.8}(C_\Sigma)$ (где C_Σ – суммарная концентрация солюбилизатора и солюбилизата (или солюбилизаторов) в растворе (г/см³)).

Зависимости отношения Рэлея от массовой концентрации вещества в мицеллярной форме для двух- и трехкомпонентных мицелл представлены на рисунках 28 (а, б) и 29, соответственно. На рис. 28б также приведены данные СРС для водных мицеллярных растворов Твин 80 без добавок. Видно (рис. 28 и 29), что во всех случаях зависимости R_{90} от концентрации линейны. Отсюда следует постоянство функции Дебая F_D (см. ур. 20) и равенство нулю вириального коэффициента A_2 , что позволяет оценить значение $M_m = 1/F_D$. Параметры, необходимые для расчета мицеллярной массы, и ее значения для двух- и трехкомпонентных мицелл представлены в табл. 8 и 9. Кроме того, в табл. 8 отражены данные для мицелл Твина 80 без добавок.

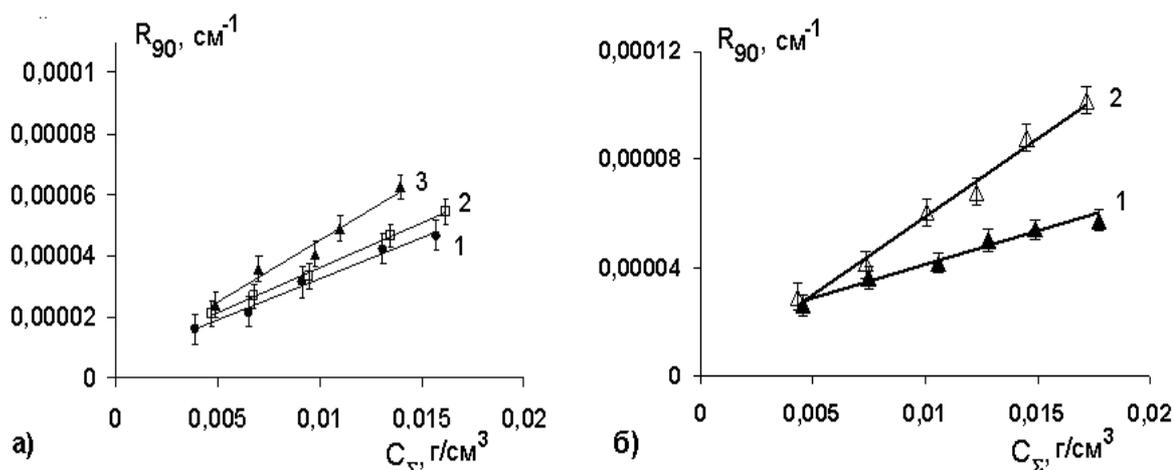


Рис. 28 (а, б). Зависимости интенсивности рассеяния света от концентрации для водных мицеллярных растворов Твин 80 без солюбилизатора (1а) и с одним солюбилизатором (2а – фелодипин, 3а – ГМО, 1б – Ам и 2б – ГМЛ). Для 1а – $C_\Sigma = C_{Тв}$, в остальных случаях $C_\Sigma = (C_{Тв} + S_{Сол})$ – суммарная равновесная массовая концентрация солюбилизатора и солюбилизата.

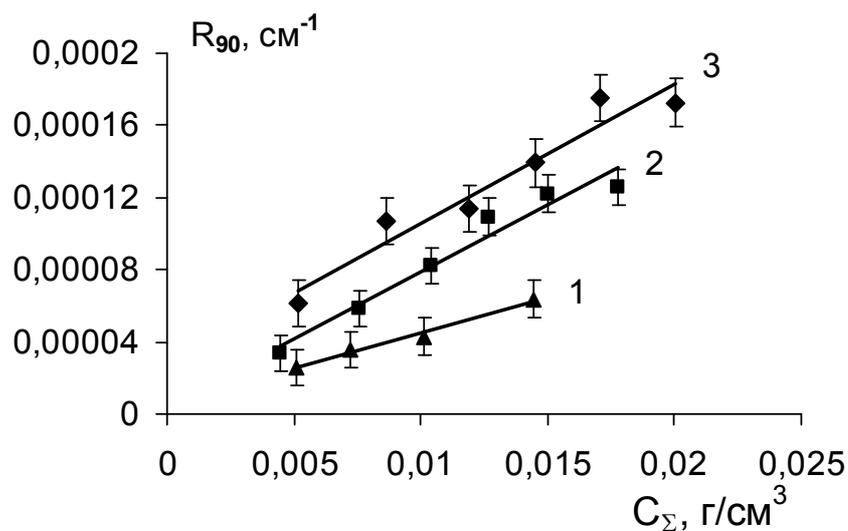


Рис. 29. Интенсивность рассеяния света трехкомпонентными мицеллами в водной среде в зависимости от суммарной массовой концентрации компонентов ($C_{\Sigma} = C_{Тв} + S_{Сол1} + S_{Сол2}$): 1 – Тв+ГМО+Ф, 2 – Тв+ГМЛ+Ф, 3 – Тв+ГМЛ+Ам.

Таблица 8. Средневесовая масса мицелл Твин 80 без солюбилизатора и с одним солюбилизатором (УП или Лк), а также параметры для ее расчета (см. уравнения 20 и 21)

Параметр	Солюбилизатор				
	Отсутствует	ГМО	ГМЛ	Ф	Ам
$dn_{632,8}/dC_{\Sigma}$, см ³ /г	0.1299	0.1766	0.1315	0.1307	0.1403
K_o , см ² /г ²	$1.22 \cdot 10^{-7}$	$2.26 \cdot 10^{-7}$	$1.25 \cdot 10^{-7}$	$1.24 \cdot 10^{-7}$	$1.43 \cdot 10^{-7}$
dR_{90}/dC_{Σ} , см ² /г	0.0027	0.0040	0.0058	0.0029	0.0024
F_D , моль миц./г	$2.26 \cdot 10^{-5}$	$2.83 \cdot 10^{-5}$	$1.08 \cdot 10^{-5}$	$2.13 \cdot 10^{-5}$	$2.97 \cdot 10^{-5}$
M_m , г/моль миц.	44160±320	35400±500	92600±400	46850±450	33640±120

$C_{\Sigma} = (C_{Тв} + S_{Сол})$ – суммарная концентрация Твин 80 и солюбилизатора (г/см³).

Таблица 9. Средневесовая масса мицелл Твин 80 с двумя солюбилизатами (УП и Лк), а также параметры для ее расчета (см. уравнения 20 и 21)

Параметр	Солюбилизаты		
	ГМО+Ф	ГМЛ+Ф	ГМЛ+Ам
$dn_{632,8}/dC_{\Sigma}$, см ³ /Г	0.1784	0.1278	0.1391
K_o , см ² /Г ²	$2.31 \cdot 10^{-7}$	$1.18 \cdot 10^{-7}$	$1.40 \cdot 10^{-7}$
dR_{90}/dC_{Σ} , см ² /Г	0.0040	0.0074	0.0077
F_D , моль миц./Г	$2.88 \cdot 10^{-5}$	$8.00 \cdot 10^{-6}$	$9.11 \cdot 10^{-6}$
M_m , г/моль миц.	34680±200	125000±500	109830±400

C_{Σ} = $C_{ТВ}$ + $S_{УП}$ + $S_{Лк}$ – суммарная массовая концентрация солюбилизатов и солюбилизатора в растворе.

В рамках данной работы было предложено рассчитывать числа агрегации компонентов мицелл на основе средней массы мицелл, их солюбилизационной емкости и уравнения материального баланса. Для мицелл Твин 80, содержащих один солюбилизат (Сол), то есть для двухкомпонентных мицелл (ТВ+Сол), справедливы следующие соотношения [153, 154]:

$$M_m = N_{ТВ} M_{ТВ} + N_{Сол} M_{Сол},$$

$$N_{Сол} = CE \cdot N_{ТВ} \text{ и } N_{ТВ} = M_m / (M_{ТВ} + CE \cdot M_{Сол}). \quad (22)$$

Для мицелл Твин 80, содержащих два солюбилизата (УП кожи и Лк), то есть для трехкомпонентных (ТВ+УП+Лк) [181, 182, 233–235]:

$$M_{миц} = N_{ТВ} M_{ТВ} + N_{Сол1} M_{Сол1} + N_{Сол2} M_{Сол2}$$

$$N_{Сол1} = CE_1 N_{ТВ}, N_{Сол2} = CE_2 N_{ТВ},$$

$$N_{ТВ} = M_m / (M_{ТВ} + CE_1 M_{Сол1} + CE_2 M_{Сол2}), \quad (23)$$

где $M_{ТВ}$, $M_{Сол}$, $M_{Сол1}$, $M_{Сол2}$ – соответственно молекулярные массы Твин 80 и соответствующих солюбилизатов (УП – Сол₁ и Лк – Сол₂); CE , CE_1 , CE_2 – солюбилизационная емкость мицелл относительно соответствующего солюбилизата (см. рис. 26 и 27); $N_{ТВ}$, $N_{Сол}$, $N_{Сол1}$, $N_{Сол2}$ – числа агрегации солюбилизатора и соответствующих солюбилизатов, т.е. число молекул каждого компонента в мицелле.

Рассчитанные значения чисел агрегации компонентов для двух- и трехкомпонентных мицелл даны в табл. 10 и 11, соответственно. Очевидно, что

усилители проницаемости кожи ГМО и ГМЛ, которые являются липофильными НП АВ (не способными к самоорганизации в водной среде), встраиваются в мицеллы Твин 80. Углеводородное ядро смешанной мицеллы состоит из гидрофобных частей Тв и УП, а их полярные группы располагаются по периферии. Важно отметить, что присутствие ГМЛ в мицеллах способствует увеличению числа молекул лекарства в мицелле (для Ф примерно в 3.7 раза, а для Ам в 4.2 раза, табл. 10 и 11).

Таблица 10. Структурные параметры мицелл Твин 80 без солюбилизатора и с одним солюбилизатором (УП или Лк)

Параметр	Солюбилизатор				
	Отсутствует	ГМО	ГМЛ	Ф	Ам
$N_{Тв}$, молекул/миц.	34±1	25±1	65±1	35±1	23±1
$N_{Сол}$, молекул/миц.	0	6±0.5	29±1	3±0.5	9±0.5
R_h , нм	3.6	5.6	5.0	5.1	3.9
$n_{w/OE}$, молекул H_2O/OE звено	6±0.5	43±1	9±0.5	23±1	14±0.5
V_o , нм ³	17.0	15.5	42.0	17.5	11.5
R_o , нм	1.6	1.6	2.15	1.6	1.4
$h_{ПОЭ}$, нм	2.0	4.0	2.85	3.5	2.5

$N_{Тв}$ и $N_{Сол}$ – числа агрегации солюбилизатора и солюбилизата, соответственно; R_h – средний гидродинамический радиус мицелл; $n_{w/OE}$ – степень гидратации; V_o и R_o – объем и радиус гидрофобного ядра; $h_{ПОЭ}$ – толщина гидратированного полиоксиэтилированного слоя.

Коэффициенты диффузии и размеры мицелл определяли методом ДРС. Сочетание методов статического и динамического рассеяния света позволяет изучать структурные параметры мицелл. Как известно [236], мерой гидратации мицелл НП АВ является число молекул воды, приходящихся на OE группу гидрофильной части молекулы ($n_{w/OE}$). Поскольку средний гидродинамический объем мицеллы ($V_h = 4\pi R_h^3/3$), рассчитанный по данным ДРС, включает гидратную воду, а ее объем (V_{th}), определенный методом СРС, соответствует флуктуациям концентрации, т.е. негидратированной мицелле, гидратация мицелл может быть

оценена путем сопоставления этих двух объемов. Для мицелл Твин 80 без УП справедливо соотношение:

$$n_{w/OE} = (V_h - V_{th})\rho_0 N_A / (20N_{Tв}M_0), \quad (24)$$

где M_0 и ρ_0 – молекулярная масса и плотность воды, 20 – число ОЕ фрагментов в молекуле Твин 80, N_A – число Авогадро.

С учетом гидратации полярной группы УП, а она одинакова для ГМО и ГМЛ (см. табл. 7) и может быть аппроксимирована четырьмя ОЕ группами, для мицелл Тв, с солюбилизированным УП, значение $n_{w/OE}$ определяется уравнением:

$$n_{w/OE} = (V_h - V_{th})\rho_0 N_A / [(20N_{Tв} + 4N_{УП})M_0], \quad (25)$$

где $N_{УП}$ – количество молекул УП в мицелле (число агрегации); в предположении сферической формы мицелл и аддитивности объемов компонентов термодинамический объем мицелл определяется соотношением:

$$V_{th} = \sum_i N_i M_{wi} / (N_A \rho_i), \quad (26)$$

где M_{wi} , ρ_i и N_i – соответственно молекулярная масса, плотность и число агрегации i -го компонента мицеллы (табл. 6 и 7).

Таблица 11. Структурные параметры мицелл Твин 80 с двумя солюбилизатами (УП и Лк)

Параметр	Солюбилизаты		
	ГМО+Ф	ГМЛ+Ф	ГМЛ+Ам
$N_{Tв}$, молекул/миц.	24±1	84±1	66±1
$N_{УП}$, молекул/миц.	6±0.3	38±1	30±1
$N_{Лк}$, молекул/миц.	3±0.3	11±0.5	38±1
R_h , нм	6.2	6.4	5.6
$n_{w/OE}$, молекул H ₂ O/ОЕ звено	63±2	17±1	13±1
V_o , нм ³	15	54.2	42.6
R_o , нм	1.5	2.25	2.2
$h_{ПОЭ}$, нм	4.7	4.15	3.4

$N_{Tв}$, $N_{УП}$ и $N_{Лк}$ – числа агрегации Тв, УП кожи и Лк, соответственно; R_h – средний гидродинамический радиус мицелл; $n_{w/OE}$ – степень гидратации; V_o и R_o – объем и радиус гидрофобного ядра; $h_{ПОЭ}$ – толщина гидратированного полиоксиэтилированного слоя.

Значения степени гидратации двух- и трехкомпонентных мицелл приведены в табл. 10 и 11. Для индивидуальных мицелл Твин 80 (табл. 10) величина $n_{w/OE}$ хорошо согласуется с результатами работы [237] для полиоксиэтилированного (21) гексадецилового спирта ($n_{w/OE} \sim 6$ молекул воды/OE группу). Данных о гидратации мицелл, содержащих солюбилизаторы, в литературе нет. Из табл. 10 и 11 видно, что солюбилизация приводит к увеличению степени гидратации мицелл.

Известно [238, 239], что УФ-спектроскопия является эффективным методом определения полярности микроокружения солюбилизатора, следовательно, и места его локализации в мицелле. В связи с этим было проведено сопоставление спектров поглощения исследованных лекарств в солюбилизированном состоянии (в 5 мМ водных растворах Твин 80 без УП и в их присутствии), а также в растворах Лк в средах с различной диэлектрической проницаемостью ($\epsilon = 1.9-80.0$) и, соответственно, разной полярностью. В качестве модели углеводородного ядра мицелл использовали гептан. Водные растворы полиэтиленгликоля ПЭГ400, для которых количество молекул воды, приходящееся на OE-звено молекулы, соответствует гидратации исследованных мицелл, моделировали их ПОЭ-слой. Для мицелл Твин 80, содержащих солюбилизаторы, значения $n_{w/OE}$ находятся в диапазоне от 9 до 63 молекул воды/OE звено (табл. 10 и 11), что соответствует концентрации водных растворов ПЭГ400 от 22 до 4 масс. %.

Значения λ_{max} для обоих Лк в солюбилизированной форме и в растворителях с различной диэлектрической проницаемостью [240–243] приведены в табл. 12. Видно, что во всех исследованных средах, за исключением гептана, максимумы поглощения для Ф и Ам наблюдаются при одной и той же длине волны. Значения λ_{max} убывают с уменьшением диэлектрической проницаемости среды (т.е. с понижением ее полярности, табл. 12). Для солюбилизированных лекарств $\lambda_{max} = 364$ нм, что соответствует микроокружению промежуточной полярности. Эта величина гораздо ближе к λ_{max} лекарств в растворах ПЭГ400 (366 нм), нежели к λ_{max} для Лк в гептане (табл. 12). Это позволяет заключить, что солюбилизированные Ф и Ам локализованы в гидратированном ПОЭ-слое мицелл. Оба Лк, относящиеся к классу дигидропиридинов, способны образовывать водородные связи (N-H...O) с OE-группами молекул Тв, которые и удерживают Лк в ПОЭ-слое мицеллы.

Таблица 12. Длина волны (λ_{\max}), соответствующая максимуму поглощения амлодипина и фелодипина, в растворителях с различной диэлектрической проницаемостью (ϵ)

Растворитель	ϵ [240–243]	λ_{\max} , нм	Степень полярности растворителя
Вода	80	366	$\epsilon > \sim 55$ полярные
Водные растворы ПЭГ400 (4–22 масс. %)	78.1–70.2 [240]	366	
Водные растворы этанола (40–65 масс. %)	54.3–40.9 [241]	364	55 > ϵ > 20 промежуточная полярность
5 мМ мицеллярный раствор Тв	–	364	
5 мМ мицеллярные растворы Тв с ГМО	–	364 (Ф)	
5 мМ мицеллярные растворы Тв с ГМЛ	–	364	
n-Пропиловый спирт	20.3 [242]	363	$\epsilon < 20$ неполярные
ПЭГ400	14.1 [240]	361	
гептан	1.9 [243]	345 (Ф) 357 (Ам)	

В предположении сферической формы мицелл, полученные данные о числах агрегации компонентов и локализации солюбилизаторов позволяют оценить структурные параметры этих самоорганизованных частиц: объем (V_0) и радиус (R_0) гидрофобного ядра, а также толщину гидратированного ПОЭ-слоя ($h_{\text{ПОЭ}} = R_h - R_0$). При условии аддитивности объемов углеводородных фрагментов молекул ПАВ, формирующих ядро мицеллы (v_i), величина V_0 определяется соотношением:

$$V_0 = \sum_i N_i \cdot v_i \quad (27)$$

где значения v_i равны 0.32 нм^3 для ГМЛ и 0.5 нм^3 для ГМО и Твин 80 [215], которые имеют одинаковые углеводородные радикалы (табл. 7).

Рассчитанные структурные параметры исследованных мицелл приведены в табл. 10 и 11. Видно, что значения R_0 практически совпадают для мицелл Твин 80 без солюбилизаторов и с солюбилизированными ГМО, Ф и Ам, т.е. солюбилизация в этих случаях не приводит к изменению размеров углеводородного ядра. При этом значения R_0 не превышают длины развернутой углеводородной цепи Твин 80, которая составляет примерно 2.3 нм [215]. Это свидетельствует о свернутой

конформации углеводородных цепей солюбилизатора, а также ГМО в ядрах мицелл, что согласуется с литературными данными [215].

Инкорпорирование в мицеллы ГМЛ, углеводородная часть молекулы которого отличается от углеводородного радикала мицеллообразующего Твин 80 меньшей длиной и отсутствием двойной связи (табл. 7), сопровождается увеличением размеров углеводородного ядра мицелл (табл. 10 и 11). По-видимому, это свидетельствует о наличии некоторых стерических затруднений при формировании ядер мицелл из разнородных гидрофобных частей НП АВ.

Наибольшие значения $h_{\text{ПОЭ}}$ наблюдаются для трехкомпонентных мицелл Тв+ГМО+Ф и Тв+ГМЛ+Ф (табл. 11), что свидетельствует об увеличении степени гидратации в присутствии гидрофобных солюбилизаторов вследствие изменения конформации (развертывания) полиоксиэтилированных частей молекул НП АВ.

Если сопоставить числа агрегации амлодипина в мицеллах Тв+Ам и Тв+ГМЛ+Ам, то можно заметить, что присутствие 30 молекул ГМЛ в мицелле сопровождается примерно таким же увеличением количества солюбилизированного Ам (на 29 молекул). Такое совпадение может быть обусловлено стерическими причинами. Вероятно, солюбилизированный амлодипин располагается в гидрофильном слое мицелл около полярных групп ГМЛ, размеры которых гораздо меньше, чем размеры РОЕ цепей Твин 80.

Данные о компонентном составе мицелл (табл. 10 и 11) и о растворимости Лк и УП в воде (табл. 6 и 7) позволили рассчитать коэффициенты распределения солюбилизаторов между мицеллами («псевдофаза») и окружающей их водной фазой [244, 245]:

$$K_M = X_M/X_B, \quad (28)$$

где X_M и X_B - соответственно мольные доли солюбилизатора в мицелле и в водной фазе, содержащей неассоциированное ПАВ [245]. Величина X_B удовлетворительно аппроксимируется мольной долей солюбилизатора в чистой воде [245]:

$$X_B \approx S_B/C_B \approx S_B/55.43, \quad (29)$$

где S_B и C_B - соответственно молярная растворимость солюбилизатора в воде и концентрация воды ($C_B = 55.43$ М при 22°C).

Значения стандартной энергии Гиббса солюбилизации определяли из соотношения [244]:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_M, \quad (30)$$

где R и T – универсальная газовая постоянная и абсолютная температура. Результаты расчетов для двух- и трехкомпонентных мицелл приведены в табл. 13 и 14, соответственно.

Таблица 13. Стандартная энергия Гиббса солюбилизации (ΔG°) для водных мицеллярных растворов Твин 80 и различных солюбилизатов при 22°C, а также необходимые для расчета параметры: мольные доли солюбилизата в мицелле (X_M) и в водной фазе (X_B), коэффициент распределения солюбилизата между мицеллами и водной фазой (K_M)

Параметр	Солюбилизат			
	Ф	Ам	ГМО	ГМЛ
X_M , м.д.	0.09	0.28	0.20	0.31
X_B , м.д.	$4.0 \cdot 10^{-8}$	$4.15 \cdot 10^{-6}$	$8.7 \cdot 10^{-8}$	$6.3 \cdot 10^{-6}$
K_M	$2.25 \cdot 10^6$	$6.8 \cdot 10^4$	$2.3 \cdot 10^6$	$4.9 \cdot 10^4$
ΔG° , кДж/моль	-35.9	-27.3	-35.9	-26.5
$\Delta G^\circ_{CH_2}$, кДж/моль	–	–	-2.1	-2.4

$\Delta G^\circ_{CH_2}$ – инкремент стандартной энергии Гиббса солюбилизации в расчете на CH_2 -группу углеводородной части молекулы УП.

Инкремент энергии Гиббса солюбилизации в расчете на метиленовую группу ($\Delta G^\circ_{CH_2} \approx \Delta G^\circ/n_{CH_2}$, где n_{CH_2} – число метиленовых групп в углеводородной цепи УП) для ГМО и ГМЛ в среднем составил -2.2 ± 0.2 кДж/моль, что характерно для процесса переноса метиленовой группы из водной фазы в углеводородное ядро мицеллы. Эти результаты хорошо согласуются со значением $\Delta G^\circ_{CH_2} = -2.48$ кДж/моль, приведенным в работе [244] для солюбилизации спиртов (от пропилового до гексилового) в водных мицеллярных растворах нескольких гомологических рядов анионных, катионных и неионогенных ПАВ. Полученное нами значение $\Delta G^\circ_{CH_2}$ характерно для процесса переноса метиленовой группы из водной фазы в углеводородное ядро мицеллы [238]. Таким образом, солюбилизация

УП в мицеллах Твин 80 обусловлена гидрофобным эффектом [215, 246] и имеет энтропийный характер.

Таблица 14. Стандартная энергия Гиббса солюбилизации (ΔG°) лекарства и усилителя проницаемости кожи в трехкомпонентных мицеллах Тв+УП+Лк при 22°C, а также необходимые для расчета параметры: мольная доля солюбилизата в мицелле (X_m) и коэффициент распределения солюбилизата между мицеллами и водной фазой (K_m)

Мицеллы	Тв+ГМО+Ф		Тв+ГМЛ+Ф		Тв+ГМЛ+Ам	
	Солюбилизаты		Солюбилизаты		Солюбилизаты	
	ГМО	Ф	ГМЛ	Ф	ГМЛ	Ам
X_m , м. д.	0.18	0.09	0.29	0.08	0.22	0.28
K_m	$2.09 \cdot 10^6$	$2.25 \cdot 10^6$	$4.60 \cdot 10^4$	$2.08 \cdot 10^6$	$3.45 \cdot 10^4$	$6.78 \cdot 10^4$
ΔG° , кДж/моль	-35.7	-35.9	-26.3	-35.7	-25.6	-27.3
$\Delta G^\circ_{CH_2}$, кДж/моль	-2.1	-	-2.4	-	-2.3	-

$\Delta G^\circ_{CH_2}$ – инкремент стандартной энергии Гиббса солюбилизации в расчете на CH_2 -группу углеводородной части молекулы УП.

Значения ΔG° для солюбилизации Ф и Ам в мицеллах Тв (независимо от наличия УП) составили соответственно -35.8 ± 0.1 и -27.3 ± 0.5 кДж/моль (табл. 13 и 14). Это вероятно связано с тем, что присутствие полярных групп солюбилизированного УП не оказывает существенного влияния на состояние гидрофильного слоя мицелл, в котором локализованы солюбилизированные молекулы Лк. Оба Лк являются дигидропиридинами, способными образовывать водородные связи (N-H...O) с оксиэтильными группами НП АВ. Именно эти связи удерживают молекулы Лк в гидратированном ПОЭ-слое мицелл. Поскольку энергия водородной связи N-H...O, например, между Ф и ПЭГ по литературным данным составляет ~ 21 кДж/моль [247], можно предположить, что основной вклад в величину ΔG° при солюбилизации лекарств вносит энтальпийная составляющая ($\Delta H^\circ < 0, |\Delta H^\circ| > |T\Delta S^\circ|$).

Кинетика массопереноса лекарств мицеллами исследована с помощью УФ-спектроскопии с использованием ячейки Франца, результаты представлены на рис. 30а и 31. 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 рисунках 30а и 31 приведены результаты расчетов в рамках диффузионной теории [248]:

$$Q_{\text{Лк}} = 2C_{\text{Лк}}(D_0/\pi)^{1/2}t^{1/2}, \quad (31)$$

где $Q_{\text{Лк}}$ – количество Лк, продиффундировавшее через единицу площади поверхности за время t ; $C_{\text{Лк}}$ – концентрация Лк в растворе Твин 80 данной концентрации, рассчитанная на основе данных о составе мицелл (табл. 10 и 11); D_0 – коэффициент диффузии мицелл, экспериментально определяемый методом ДРС.

Хорошее совпадение экспериментальных и расчетных результатов (рис. 30а и 31), свидетельствует о том, что диффузия мицелл определяет скорость массопереноса солюбилизированного в них лекарства. Очевидно, что массоперенос УП кожи в водной среде также будет определяться диффузией мицелл, в которых он солюбилизирован (рис. 30б).

Массоперенос Лк возрастает в следующем порядке для мицелл: $Tв+Ф < Tв+ГМО+Ф \approx Tв+ГМЛ+Ф < Tв+Ам < Tв+ГМЛ+Ам$. В присутствии УП количество транспортируемого Лк возрастает, механизм промотирования определяется спецификой УП. Так, солюбилизация ГМО, имеющего идентичный с Тв углеводородный радикал, сопровождается уменьшением $N_{Tв}$ и, как следствие, увеличением концентрации мицелл, поэтому даже при неизменном количестве солюбилизированного $Ф$ ($N_{Ф} = \text{const}$) массоперенос Лк возрастает. В случае ГМЛ (с более коротким углеводородным радикалом и более высокой по сравнению с ГМО растворимостью в воде) промотирующий эффект наблюдается даже в условиях увеличения $N_{Tв}$ и уменьшения концентрации мицелл (при данной $C_{Tв}$) благодаря росту количества молекул $Ф$, транспортируемого каждой мицеллой (рост $N_{Ф}$).

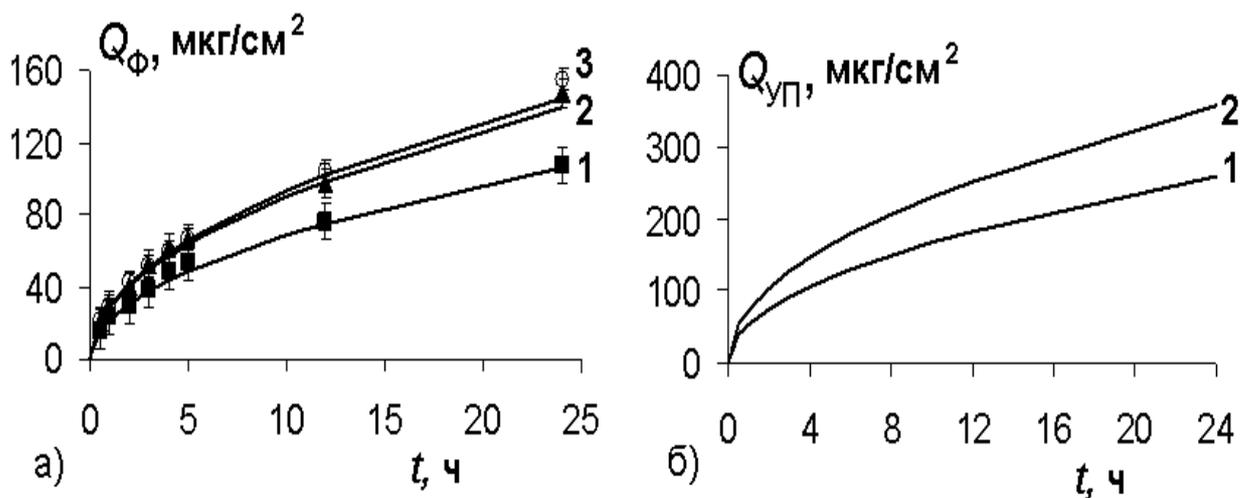


Рис. 30 (а, б). Кинетика массопереноса фелодипина (а) и УП кожи (б) в 15 мМ водных мицеллярных растворах Твин 80 а) 1 – мицеллы Тв+Ф, 2 – мицеллы Тв+ГМО+Ф, 3 – мицеллы Тв+ГМЛ+Ф; б) 1 – мицеллы Тв+ГМО+Ф, 2 – мицеллы Тв+ГМЛ+Ф. Символы – эксперимент, сплошные линии – расчет.

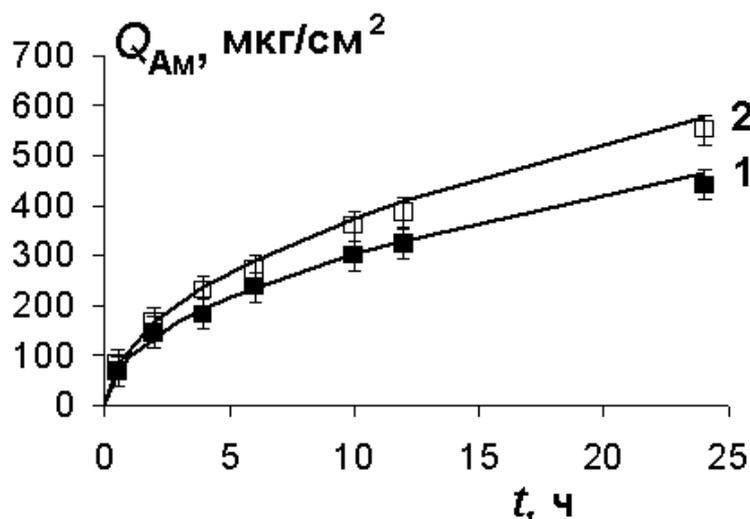


Рис. 31. Кинетика массопереноса амлодипина в 12 мМ водных мицеллярных растворах Твин 80: 1 – мицеллы Тв+Ам, 2 – мицеллы Тв+ГМЛ+Ам. Символы – эксперимент, сплошные линии – расчет.

Растворимость Лк в исследованных мицеллярных системах возрастает с ростом концентрации Твин 80 и может превышать растворимость данного лекарства в воде на 1–3 порядка и более. Возникшие в результате солюбилизации смешанные мицеллы на основе Твин 80 являются эффективными носителями и лекарства, и УП. Полученная информация о количестве молекул каждого компонента в мицеллах, о коэффициентах диффузии мицелл позволяет

прогнозировать кинетику массопереноса целевых компонентов в водной среде и, в свою очередь, рассчитывать (а не эмпирически подбирать) эффективные для доставки Лк составы обратных В/М и двойных $M_1/V/M_2$ эмульсий, водные фазы которых содержат трехкомпонентные мицеллы Тв+УП+Лк (см. главу 7).

Глава 4. ПРЯМЫЕ МИКРОЭМУЛЬСИИ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НОСИТЕЛИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВ

4.1. Микроэмульсионные системы для трансдермального применения (обзор)

Микроэмульсии (МЭ) являются уникальными современными объектами коллоидной химии, активно исследуемыми в последнее время. Доказана эффективность применения МЭ для повышения нефтеотдачи, синтеза наночастиц неорганических веществ и полимеров заданной структуры, в качестве сред для ферментативных реакций, а также в качестве наноразмерных средств доставки лекарств и биологически активных веществ [249–251]. В медицине МЭ используются при пероральном, парентеральном (путем инъекций и капельниц, минуя пищеварительный тракт), местном (нанесение на кожу) и трансдермальном способах введения лекарств [251–262].

МЭ представляют собой визуально прозрачные или слегка опалесцирующие смеси масла, воды и ПАВ (чаще их смесей), которые на микроскопическом уровне характеризуются различной структурой (капельной [263–265], биконтинуальной [266]) с интенсивной динамикой [267, 268]. Микроэмульсии являются нанодисперсиями воды или масла с диаметром частиц от 1 до 100 нм, самопроизвольно образующимися и, как следствие, термодинамически устойчивыми, что отличает их от эмульсий, которые принципиально нестабильны, подвержены процессам деградации (коалесценции, коагуляции, изотермической перегонки, флокуляции, седиментации и, в конце концов, фазовому разделению).

Термодинамическая устойчивость микроэмульсий обоснована в работах [269–271]. Образование жидкофазной дисперсной системы сопровождается изменением свободной энергии Гиббса:

$$\Delta G = \sigma \Delta A - T \Delta S, \quad (32)$$

где σ – межфазное натяжение на границе раздела масло/вода, ΔA – изменение площади межфазной поверхности при диспергировании, ΔS – изменение энтропии системы, T – температура.

Согласно исследованиям [269–270], самопроизвольное возникновение микроэмульсии возможно при условии ультранизких значений межфазного натяжения ($\sim 10^{-2}$ – 10^{-3} мН/м), при котором реализуется условие $\Delta G < 0$, то есть, когда энергетические затраты, связанные с созданием новой поверхности, компенсируются выигрышем энтропии при смешении и включении частиц в тепловое движение ($T\Delta S > \sigma\Delta A$). Эти представления [269–270] находятся в соответствии с критериальным условием самопроизвольного образования дисперсных систем, предложенного Ребиндером и Щукиным [109].

В трехкомпонентных системах, содержащих воду, ПАВ и масло, необходимые ультранизкие значения σ на границе вода/масло (следовательно, и возникновение МЭ) реализуются нечасто. Как правило, трехкомпонентные МЭ получают при использовании неионогенных ПАВ [272–276]. Фазовое поведение систем вода–углеводород–НПАВ с анализом условий возникновения МЭ в зависимости от состава и температуры систематически исследовалось Шиной с соавторами [272–276]. В наших работах [172, 173, 277–279] проанализированы условия самопроизвольного образования МЭ толуол/вода, стабилизированных гидрофильным НПАВ (Твин 80), исследовано влияние концентрации толуола на свойства МЭ (солюбилизационную емкость, размеры частиц). Методом ЯМР-спектроскопии показано, что 60 % толуола локализовано в углеводородном ядре, а 40 % – в оксиэтильном слое капель микроэмульсии [279]. В случае ионогенных ПАВ образование трехкомпонентных МЭ практически не наблюдается. Уникальным примером могут служить МЭ вода/изооктан, стабилизированные анионным липофильным ПАВ Аэрозоль ОТ в отсутствие дополнительных добавок (со-ПАВ, электролитов) [280].

Поскольку единственное ПАВ, как правило, не может обеспечить снижения межфазного натяжения до ультранизких значений, что является необходимым условием образования МЭ, часто используют добавку со-ПАВ. В качестве со-ПАВ применяют спирты с короткой и средней длиной углеводородной цепи (этанол, пропанол, изопропанол, бутанол), многоатомные спирты (1,2-пропандиол (пропиленгликоль), 1,2-октандиол, 1,2-гександиол), производные полиглицерола и т.д. В большинстве случаев, МЭ являются многокомпонентными, в дополнение к

трем основным компонентам они могут включать не только со-ПАВ, но и сорастворители, электролиты.

В настоящее время общепризнанной является классификация МЭ, предложенная Винзором [281, 282]:

- I тип (WI) – двухфазная система, нижняя фаза которой представляет собой МЭ масло/вода (M/B), находящуюся в равновесии с избытком масла,
- II тип (WII) – двухфазная система, верхняя фаза которой является микроэмульсией вода/масло (B/M), находящейся в равновесии с избытком воды,
- III тип (WIII) – трехфазная система, в которой промежуточная фаза представляет собой биконтинуальную микроэмульсию, находящуюся в равновесии с избытками масла (верхняя фаза) и воды (нижняя фаза),
- IV тип (WIV) – макроскопически однофазная система, представляющая собой микроэмульсию, которая, в зависимости от соотношения компонентов, может быть прямой (M/B), биконтинуальной или обратной (B/M).

Одновременное присутствие двух находящихся в равновесии микроэмульсионных фаз, одна из которых контактирует с избытком воды, а другая – с избытком масла, также возможно [283]. Такие четырехфазные системы относят к V типу, что дополняет классификацию Винзора [255].

Фазовое состояние микроэмульсий исследуется во многих работах. Обычно оно основывается на визуальном наблюдении за образцами с известным композиционным составом. В дополнение исследуют электропроводность, вязкость и другие физико-химические свойства композиций. Главная проблема при этом – длительное время установления равновесия для мультифазных областей, особенно, в случае жидкокристаллических фаз. При фиксированных давлении и температуре фазовое состояние систем вода-ПАВ-масло описывают с помощью тройных фазовых диаграмм, имеющих форму равностороннего треугольника, каждая сторона которого соответствует массовой концентрации определенного компонента. В случае четырех- и более компонентных МЭ используются псевдо-трехкомпонентные фазовые диаграммы, в которых бинарная смесь компонентов рассматривается как один компонент (ПАВ + со-ПАВ, вода + сорастворитель, масло + сорастворитель). В силу многообразия композиционных составов фазовые

диаграммы отличаются большим разнообразием. Примеры псевдо-трехкомпонентных фазовых диаграмм, отражающих области существования различных фаз, в том числе и МЭ различного типа, представлены в работах [255, 267, 284–287]. Краткое обобщение этих сведений, а также анализ условий и причин обратимых фазовых переходов между МЭ различных типов по классификации Винзора приведено нами в [75].

Для практических применений эффективнее использовать макроскопически однофазные МЭ (WIV), которые можно получить лишь при достаточно больших концентрациях ПАВ. МЭ данного типа могут иметь различную внутреннюю микроструктуру. Обычно, когда мольная доля масла мала, МЭ представляют собой нанодисперсии капель масла в воде (прямые микроэмульсии, М/В). Если же вода находится в малых количествах, то МЭ являются дисперсиями воды в непрерывной масляной фазе (обратные микроэмульсии, В/М). При соизмеримом содержании воды и масла, формируются непрерывные биконтинуальные структуры, состоящие из доменов масла и воды, разделенных межфазным слоем (рис. 32). При определенных условиях (изменение соотношения компонентов композиции и температуры) наблюдаются обратимые фазовые переходы: прямая МЭ ↔ биконтинуальная МЭ ↔ обратная МЭ (Рис. 32). В работах [288, 289] экспериментально подтверждены такие структурные превращения в макроскопически однофазных МЭ (в отсутствие фазового разделения) при изменении содержания воды.

В силу разнообразия композиций и структурной организации МЭ для получения полной информации об их строении и свойствах необходимо комплексное исследование, сочетающее различные методы. Для определения строения микроэмульсии используют ЯМР-спектроскопию, поляриационную микроскопию, кондуктометрию, вискозиметрию, рефрактометрию, флуоресцентную и УФ-спектроскопии [260, 290–295]. В частности, ЯМР-спектроскопия позволяет определить коэффициенты самодиффузии компонентов МЭ при хаотическом движении молекул в отсутствие градиента концентраций. Величины коэффициентов самодиффузии компонентов, находящихся в дисперсной фазе, будут определяться диффузией частиц дисперсной фазы и поэтому будут примерно на 2 порядка величины меньше, чем для компонентов, присутствующих

в дисперсионной среде [290–295]. Следовательно, в случае прямых МЭ самодиффузия молекул масла будет медленнее, чем молекул воды. Обратная картина будет наблюдаться для МЭ вода/масло. Поскольку биконтинуальные микроэмульсии характеризуются наличием протяженных пленок воды и масла, разделенных межфазным слоем ПАВ [266, 296] (рис. 32), для них наблюдаются достаточно высокие коэффициенты самодиффузии молекул воды и масла [290–292], однако, немного меньшие, чем для соответствующих молекул, находящихся в дисперсионной среде МЭ капельного строения. Размеры частиц в МЭ исследуют методами динамического рассеяния света [259, 260, 297, 298] и малоуглового рассеяния нейтронов [259, 260, 290, 298].

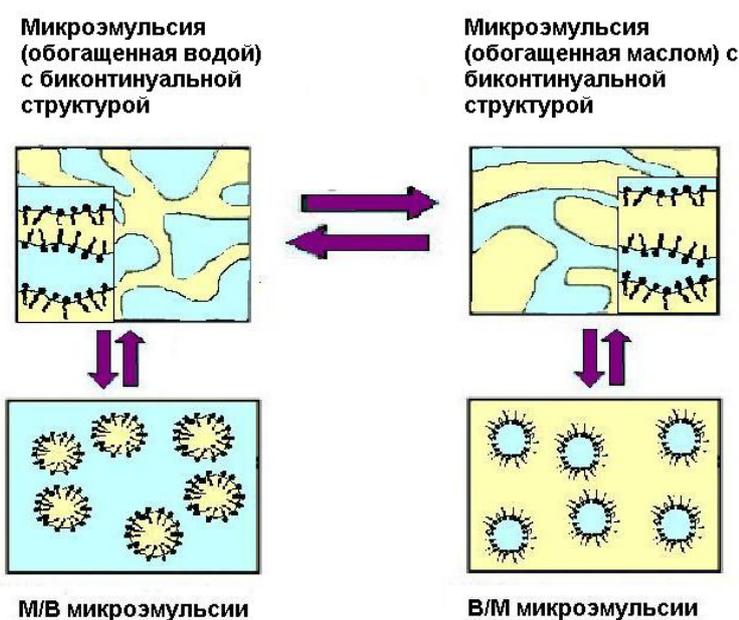


Рис. 32. Структурные превращения (полиморфизм) в макроскопически однофазных микроэмульсиях [250].

Микроэмульсии как носители лекарств весьма перспективны, поскольку термодинамически стабильны, самопроизвольно образуются (что не требует энергозатрат), эффективно солюбилизуют как липофильные, так и гидрофильные лекарства. Малый размер капель и огромная площадь межфазной поверхности обеспечивают перераспределение лекарства между дисперсной фазой и дисперсионной средой МЭ, что позволяет поддерживать постоянную концентрацию медикамента и обеспечивает его пролонгированную доставку с постоянной скоростью. Использование МЭ позволяет защитить лекарство от

различных типов деградации, повысить его биодоступность, снизить дозировку и минимизировать побочные эффекты [250, 255, 259, 260, 299].

Корректный выбор компонентов микроэмульсий имеет принципиальное значение для трансдермального применения. Ингредиенты должны быть безопасными, биосовместимыми, гипоаллергенными, не вызывающими раздражения кожи. В качестве масляной фазы МЭ, как правило, используют вещества, которые являются усилителями проницаемости кожи и отвечают требованиям безопасности. К ним относятся жирные кислоты (чаще олеиновая), спирты (октанол, деканол, додеканол), сложные эфиры одноатомных спиртов и жирных кислот (изопропилмирикат, изопропилпальмитат, этилолеат), триглицериды со средней длиной углеводородной цепи (триацетин), терпены (лимонен, ментол) и т.д. [260].

В качестве стабилизаторов чаще всего используют неионогенные ПАВ, поскольку они, в отличие от ионогенных, не вызывают раздражения кожи и безопасны. Среди них – полиоксиэтилированные сорбитаны (Твины), сорбитаны (Спаны), полиоксиэтилированные эфиры жирных кислот (Бриджи) и т.д. В обзорах [259, 300] приведен детальный перечень сочетаний НПАВ/со-ПАВ и составов МЭ, для которых исследована эффективность в качестве переносчиков широкого круга лекарств (более 30 наименований) через кожу различного происхождения или через мембраны.

Фазовые диаграммы, на которых зафиксированы области существования макроскопически однофазных МЭ, приведены в работах [258, 260, 301–303]. При этом далее исследуются структурные особенности и свойства макроскопически однофазных МЭ, тогда как компонентные составы, соответствующие области фазового разделения, считаются неоптимальными [258, 260, 301–304].

Наиболее типичные литературные данные [258, 295, 301, 303, 305–307] относительно эффективности микроэмульсий в качестве носителей лекарственных препаратов приведены в табл. 15. На основании этой таблицы, а также обзорных статей [259, 260, 300] можно заключить, что скорость трансдермального массопереноса гидрофобных лекарств выше:

- из МЭ по сравнению с гелями, эмульсиями и мицеллярными растворами,
- из прямых МЭ, нежели из обратных

– при увеличении массовой доли воды в обратных МЭ.

До настоящего времени механизмы промотирования трандермального массопереноса лекарств, инкорпорированных в МЭ, не совсем ясны. Вероятными причинами могут служить:

- высокая солюбилизационная емкость МЭ по отношению к лекарству, что обеспечивает его более высокое содержание в композиции и создает высокий градиент концентраций при переносе через кожу,
- в прямых МЭ дисперсная фаза, являясь источником гидрофобного лекарства, обеспечивает насыщение дисперсионной среды и поддерживает градиент концентрации препарата при трансдермальном переносе,
- присутствие компонентов, являющихся усилителями проницаемости кожи, которые, воздействуя на ее липидную структуру, увеличивают диффузию лекарства,
- ультранизкие значения межфазного натяжения, характерные для МЭ, обеспечивают хорошее смачивание и превосходный контакт между поверхностью кожи и трансдермальной композицией.

Помимо несомненных достоинств МЭ, они не лишены некоторых недостатков. Так, высокие концентрации ПАВ и со-ПАВ, необходимые для обеспечения термодинамической устойчивости МЭ (особенно в случае макроскопически однофазных), могут вызывать раздражение кожи. Более того, поскольку стабильность МЭ зависит от ряда параметров (температура, рН, степень разбавления и т.п.), неизменность которых не всегда гарантирована, на практике весьма вероятны нежелательные изменения структуры МЭ [308, 309].

Следует подчеркнуть, что низкая вязкость МЭ может служить препятствием для их накожного и трансдермального применения [260]. Во избежание этого недостатка, с помощью различных загустителей (желатин, карбопол, каррагенан, карбомер 940, ксантановая камедь и т.п.) получают гели с инкорпорированными МЭ – носителями лекарства [310–312]. Такие гели находят практическое применение, однако дозу выделяющего при этом лекарства трудно регулировать и контролировать.

Таблица 15. Микроэмульсии как средства доставки гидрофобных лекарств

Лекарство	Компоненты МЭ	Тип МЭ	Мембрана	Скорость диффузии лекарства, мкг/(см ² ч)
Нифедипин (гипотензивное средство) [305]	Масляная фаза – бензиловый спирт	М/В	Кожа мыши (in vitro)	7.8 (соразтворитель – пропиленгликоль)
	Водная фаза – смесь воды и соразтворителя			18.6 (соразтворитель – транскутол)
	ПАВ – Твин 20			
	со-ПАВ – тауродезоксихолат натрия			
Лидокаин основание (анестетик) [303]	Масляная фаза – изопропилмиристат (ИПМ)	В/М	Кожа человека (in vitro)	16.5
	Водная фаза – смесь воды, этанола и метилпирролидона			
	ПАВ – Твин 80	М/В		23.5
	со-ПАВ – олеиловый спирт			
Фелодипин (гипотензивное средство) [306]	Масляная фаза – смесь ИПМ и бензилового спирта	М/В	Кожа мышей (in vitro)	В 10–50 раз выше, чем из суспензии фелодипина в воде
	Водная фаза – смесь воды с транскутолом и карбополом			
	ПАВ – Твин 20			
	со-ПАВ – тауродезоксихолат			

Продолжение таблицы 15

Лекарство	Компоненты МЭ	Тип МЭ	Мембрана	Скорость диффузии лекарства, мкг/(см ² ч)
Лидокаин, тетракаин, дибукаин (гипотензивные средства) [301]	Масляная фаза – изопропилпальмитат (ИПП)	М/В	Кожа человека (in vitro)	21.4 (лидокаин) 16.4 (тетракаин) 3.0 (дибукаин)
	Водная фаза – вода			
	ПАВ – Бридж 97	В/М		8.1 (лидокаин) 2.8 (тетракаин) 1.2 (дибукаин)
	со-ПАВ – бутанол			
Диклофенак (анестетик) [295]	Масляная фаза – соевое масло	В/М	Мембрана из целлюлозы	0.04 (этанол) 0.058 (изо-пропанол) 0.059 (пропанол)
	Водная фаза – вода			
	ПАВ – смесь Бридж 58 и Спан 80			
	со-ПАВ – этанол, изопропанол или пропанол			
Лидокаин основание (анестетик) [258]	Масляная фаза – ИПП	В/М	Кожа крыс (in vitro)	12.5 (12 % воды) 45.8 (20 % воды) 68.2 (20 % воды)
	Водная фаза – вода			
	ПАВ – смесь глицерилолеата и полиоксиэтилированного (40) стеарата			
	со-ПАВ – тетраглицерол			
Тетраметилпиразин (нейропротектор) [307]	Масляная фаза – ИПМ	М/В	Кожа крыс (in vitro)	263.0 (МЭ) 46.0 (10 % водный раствор этанола, насыщ. Лк) 9.0 (матричный пластырь)
	Водная фаза – вода			
	ПАВ – Labrasol®			
	со-ПАВ – 1-полиглицерил-3 диолеат			

Labrasol® – каприлокапроил макрогол-8 глицерид

В связи с вышесказанным можно заключить, что за использованием МЭ в составе пластырей различного типа, безусловно, большое будущее. Вместе с тем, такие исследования единичны. Так, например, в работе [307] разработан пластырь резервуарного типа, где в качестве источника гидрофобного лекарства (тетраметилпиразина) служит загущенная ксантовой камедью МЭ, компонентный состав которой представлен в табл. 15. В опытах *in vivo* показано, что этот пластырь обеспечивает постоянную концентрацию тетраметилпиразина в плазме крови крыс (0.4 мкг/мл) в интервале от 1 до 24 ч, тогда как классический матричный пластырь на основе полиметилакрилатов (Eudragit® E100) обеспечивает постоянство концентрации данного Лк лишь в течение 1–4 ч [307].

Обратная МЭ с лидокаином (см. табл. 15) была иммобилизована в матричный пластырь в процессе прессования 20 % гуарового полимера в течение часа при комнатной температуре [258, 313]. В опытах *in vitro* (кожа крыс) показано, что за время наблюдения (3 ч) трансдермальный массоперенос лидокаина из патча оказался примерно в 2 раза больше, нежели из крема EMLA, являющегося коммерческим продуктом и представляющего собой макроэмульсию м/в [313]. Об адгезивных свойствах данного гидрофильного матричного пластыря не сообщается.

Авторы [314] разработали гидрофильную полимерную матрицу на основе МЭ, которая включает одновременно гидрофильное (лигастразин фосфат, ЛФ) и гидрофобное (гиперзин А, ГА) лекарства от болезни Альцгеймера. Микроэмульсия содержит лишь 1 мас. % дисперсной фазы (олеиновой кислоты), 0.45 % ЛФ, 12 % НПАВ (Stemorphor RH40), 4 % со-ПАВ (этанола), 2.5 % ГА и 80.05 % воды, т.е. является разбавленной прямой МЭ. Далее незначительное количество МЭ (11 масс. %) вводили в водный раствор поливинилового спирта с добавками поливинилпирролидона, ПЭГ400 и гексагексаола [314]. Таким образом, в процессе получения матрицы происходит значительное разбавление водой прямой МЭ (да еще в присутствии дополнительных соразтворителей), что совсем не гарантирует сохранение ее свойств и структуры. Весьма вероятно трансформация МЭ в раствор. После сушки матрица содержит до 15 масс.% воды и не обладает адгезией к сухой коже. Адгезия пленки наблюдается лишь при увлажнении кожи. Таким образом, разработан довольно интересный биоадгезивный полимерный носитель сразу двух

лекарств различной полярности [314], который, однако, нельзя считать материалом, содержащим МЭ.

Отметим, что прямые МЭ как эффективные носители гидрофобных лекарств весьма перспективны для создания полимерных липофильных адгезивных матриц различной микроструктуры для трансдермального применения, однако информации о таких исследованиях нами в литературе не обнаружено.

Анализ состояния области позволяет сформулировать требования к МЭ, пригодным для эффективного трансдермального массопереноса липофильного лекарства. Микроэмульсия должна быть: 1) макроскопически однофазной, типа «масло/вода»; 2) содержать как можно меньше стабилизатора, поскольку высокие его концентрации (25 масс. % и более), как правило, необходимые для получения макроскопически однофазных МЭ, могут негативно воздействовать на кожу; 3) все компоненты должны быть нетоксичными, биосовместимыми и способными увеличивать проницаемость кожи относительно лекарства; 4) обладать большой солюбилизационной способностью по отношению к лекарству.

Цель исследования состоит: 1) в разработке микроэмульсионных композиций, удовлетворяющих перечисленным выше требованиям и пригодных для инкорпорирования фелодипина и амлодипина; 2) исследовании влияния лекарственного вещества на свойства МЭ; 3) определение эффективности разработанных МЭ для доставки липофильных Лк; 4) получение полимерных адгезивных матриц на основе МЭ.

4.2. Прямые микроэмульсии на основе лимонена (УП кожи) с инкорпорированным фелодипином

Псевдотрехкомпонентная фазовая диаграмма, полученная для пятикомпонентной системы, состоящей из лимонена, бутанола, воды, Твин 60 и 1.2-пропиленгликоля (ПГ), представлена на рис. 33 [315]. На этой диаграмме видна обширная макроскопически однофазная область, простирающаяся вплоть до средних концентраций стабилизатора. Следует отметить, что структурные особенности наносистем, соответствующих макроскопически однофазной области (рис. 33), в работе [315] не анализировались, т.е. области существования прямых,

обратных и биконтинуальных МЭ, а может быть и жидкокристаллических структур, не были конкретизированы.

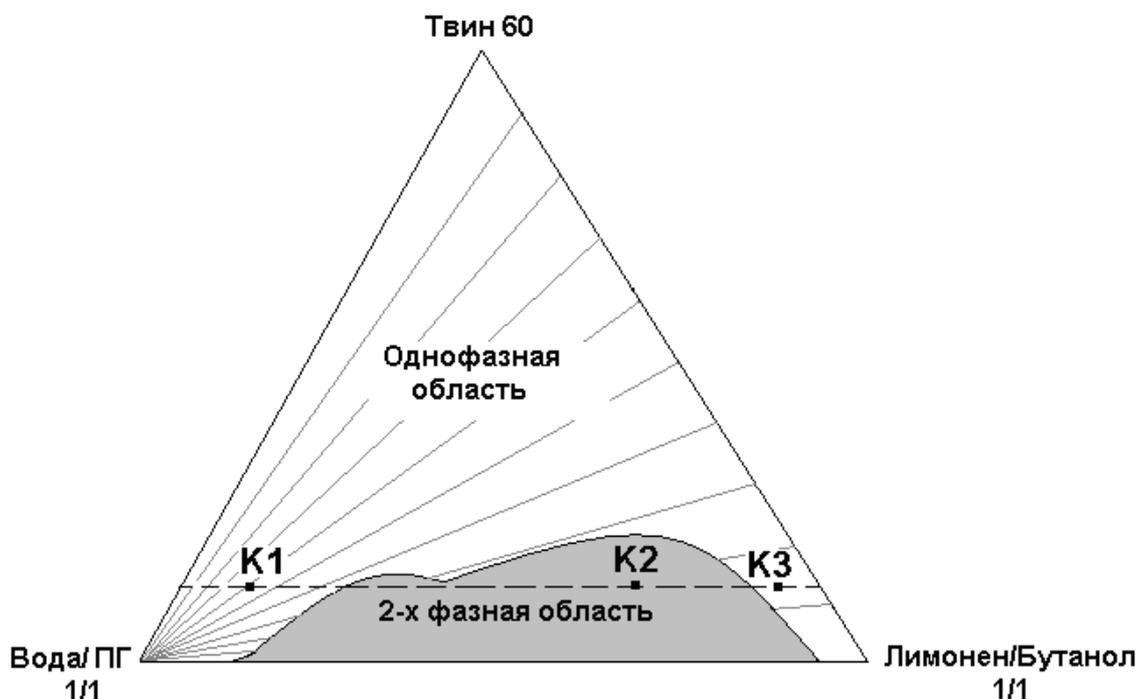


Рис. 33. Псевдотрехкомпонентная фазовая диаграмма для системы вода: ПГ/лимонен:бутанол/Твин 60 при 25°C [315]. Точки отражают полученные нами на основе Твин 80 композиции К1, К2 и К3.

В качестве неполярной фазы в работе [315] использована смесь лимонен/бутанол (1/1, по массе), прежде всего, было необходимо определить растворимость фелодипина ($S_{\text{ф}}$) в этой бинарной смеси. Смесь насыщали фелодипином при периодическом перемешивании в течение нескольких суток, фильтровали. УФ-спектроскопия (рис. 34) подтвердила хорошую растворимость фелодипина ($S_{\text{ф}} = 0.324 \text{ M}$), которая в $1.47 \cdot 10^5$ раз превышает его растворимость в воде. Кроме того, бутиловый спирт и особенно лимонен [316] являются усилителями проницаемости кожи, а бутанол применяется как со-ПАВ при получении МЭ [259, 301]. Таким образом, смесь лимонен/бутанол (1/1, по массе), подходит в качестве дисперсной фазы МЭ для иммобилизации фелодипина.

Полярная фаза МЭ [315] представляет собой бинарный раствор вода – 1,2-пропиленгликоль (1/1, мас.) с достаточно высокой диэлектрической проницаемостью, равной 57 при 25°C [317]. Оба компонента полярной фазы способны образовывать водородные связи, и являются средами, в которых

наблюдается самоорганизация молекул ПАВ в прямые мицеллы [318, 319], полностью смешиваются друг с другом (но не смешиваются с неполярными углеводородными жидкостями), могут усиливать трансдермальный массоперенос многих веществ, в том числе и лекарств [316]. Таким образом, бинарный раствор вода/ПГ вполне пригоден в качестве дисперсионной среды прямой МЭ.

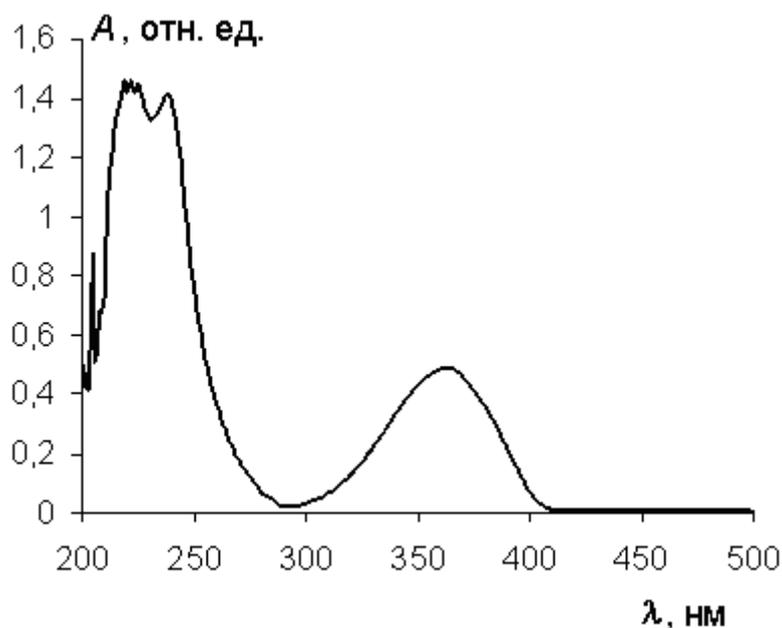


Рис. 34. Спектр поглощения фелодипина для определения его растворимости в бинарной смеси лимонен/бутанол (1/1, по массе). Разбавление в 4515 раз н-пропанолом. Бланк – аналогичный состав, но без Ф.

Мы предположили, что замена Твин 60 на Твин 80, который имеет близкое значение ГЛБ и отличается только наличием двойной связи в углеводородном радикале, практически не должна повлиять на фазовое поведение данной многокомпонентной системы. Целесообразность этой замены обусловлена низкой гемолитической активностью Твин 80 [192], хорошими солубилизирующими свойствами его мицеллярной формы по отношению к фелодипину (глава 3), а также его способностью ускорять трансдермальный массоперенос ряда лекарств [259].

Для проверки целесообразности замены, нами на основе Твин 80 были приготовлены три композиции (К1, К2 и К3), составы которых представлены в табл. 16. Визуальные наблюдения показали, что композиции К1 и К3 являются

макроскопически однофазными, а К2 – двухфазна. Композиция К2 далее не исследовалась. Поляризационная оптическая микроскопия подтвердила отсутствие жидкокристаллических фаз в композициях К1 и К3, а значения среднего гидродинамического радиуса частиц (R_h) частиц по данным ДРС (PhotoCor SP) соответственно составили 17.8 ± 0.8 и 26.2 ± 1.2 нм, что подтверждает принадлежность к МЭ. Измерения электропроводности и реакция композиции на разбавление водой позволили доказать, что К1 является прямой МЭ, а К3 – обратной. Полученные результаты обозначены на фазовой диаграмме черными точками (рис. 33). Таким образом, замена НПАВ не повлияла на фазовое состояние исследованных пятикомпонентных композиций. Для дальнейших исследований была выбрана прямая МЭ (композиция К1), содержащая достаточно низкую концентрацию Твин 80 (см. табл. 16), которую далее будем обозначать как МЭ_{К1}. Данная микроэмульсия сохраняла стабильность в течение всего времени наблюдения (более года).

Таблица 16. Фазовое состояние и компонентный состав для системы: вода: ПГ (1:1)/лимонен:бутанол (1:1)/Твин 80 при 22°C

Обозначение композиции	К1	К2	К3
Фазовое состояние	Макроскопически однофазная МЭ М/В	двухфазная система	Макроскопически Однофазная МЭ В/М
Компонент	Содержание компонентов, масс. %		
Лимонен	4.8	31.7	40.7
Бутиловый спирт	4.8	31.7	40.7
Вода	38.9	12	3.0
Пропиленгликоль	38.9	12	3.0
Твин 80	12.6	12.6	12.6

Растворимость фелодипина в микроэмульсии МЭ_{К1} определяли при насыщении в течение недели (при осторожном периодическом перемешивании и хранении в условиях темноты). Пробу жидкости над осадком фелодипина осторожно отбирали, фильтровали, разбавляли н-пропиловым спиртом, молярный коэффициент экстинкции Φ в котором был определен нами заранее (табл. 5), и

исследовали с помощью УФ-спектроскопии (рис. 35). Раствор сравнения имел аналогичный состав, но не содержал лекарства. Опыт повторяли 5 раз, вычисляя среднее значение растворимости, которое составило $(4.45 \pm 0.25) \cdot 10^{-2}$ М при 22°C, что превышает растворимость лекарства в воде более, чем 20000 раз.

Микроэмульсию МЭ_{К1}, насыщенную фелодипином, будем обозначать как МЭ_Ф. Значение ее электропроводности (83 мкСм/см) и оптическая изотропность, подтвержденная ОМ с использованием поляризационного света, свидетельствуют о том, что МЭ_Ф является прямой микроэмульсией, то есть введение лекарства не повлияло на ее тип. Состав МЭ_Ф представлен в табл. 17.

Таблица 17. Состав микроэмульсии с фелодипином МЭ_Ф

Компонент	Концентрация, масс. %
Фелодипин	1.70
Лимонен	4.72
Бутиловый спирт	4.72
Вода	38.24
Пропиленгликоль	38.24
Твин 80	12.39

С целью определения места локализации иммобилизованного фелодипина нами были сопоставлены его спектры поглощения в МЭ_Ф и в бинарных растворах лимонен/бутанол (1/1, масс.) и вода/ПГ (1/1, масс.), которые, соответственно, являются дисперсной фазой и дисперсионной средой данной микроэмульсии. Отметим, что МЭ_Ф была разбавлена в 900 раз микроэмульсией МЭ_{К1}. Спектры представлены на рис. 36. Видно, что во всех случаях максимум поглощения наблюдается при длине волны 363 нм. Это не позволяет определить место локализации лекарства.

Однако если предположить, что весь фелодипин локализован в частицах дисперсной фазы, то можно с учетом его растворимости в этой фазе (т.е. в бинарной смеси лимонен/бутанол), а также содержания дисперсной фазы в МЭ_Ф (11.14 масс. %, что эквивалентно 12.86 об. %) рассчитать растворимость лекарства

в микроэмульсии. Рассчитанное значение растворимости лекарства составило $4.18 \cdot 10^{-2} \text{M}$, что в пределах ошибок опыта совпадает с экспериментально полученным значением $(4.45 \pm 0.25) \cdot 10^{-2} \text{M}$. Поэтому можно заключить, что лекарство локализовано в каплях микроэмульсии.

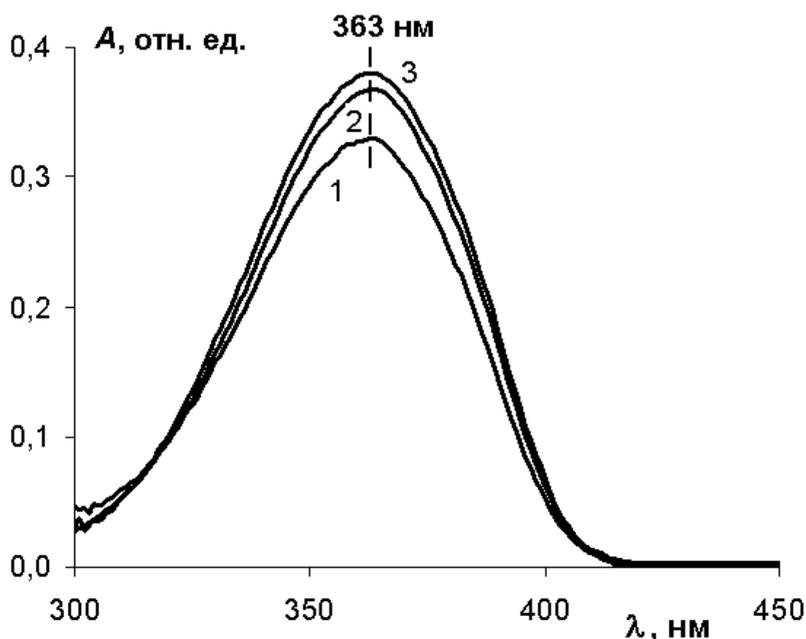


Рис. 36. Спектры поглощения фелодипина в микроэмульсии МЭ_Ф (1, насыщена Ф), в бинарных растворах лимонен/бутанол (2, $C_{\text{Ф}} = 5.54 \cdot 10^{-5} \text{M}$) и вода/пропиленгликоль (3, $C_{\text{Ф}} = 5.50 \cdot 10^{-5} \text{M}$). МЭ_Ф была разбавлена в 900 раз микроэмульсией аналогичного состава, но без Ф (т.е. МЭ_{К1}). Спектры получали относительно соответствующей растворяющей жидкости.

Результаты дисперсионного анализа для микроэмульсии МЭ_Ф представленные на рис. 37, свидетельствуют о бимодальном распределении частиц по размерам. Присутствуют две основные фракции, средние диаметры частиц которых составляют 9.47 и 40.90 нм. Следует подчеркнуть, что это достаточно неожиданный результат. Поэтому был исследован размер частиц в трехкомпонентном растворе вода/ПГ/Твин 80, который является дисперсионной средой данной микроэмульсии (рис. 38).

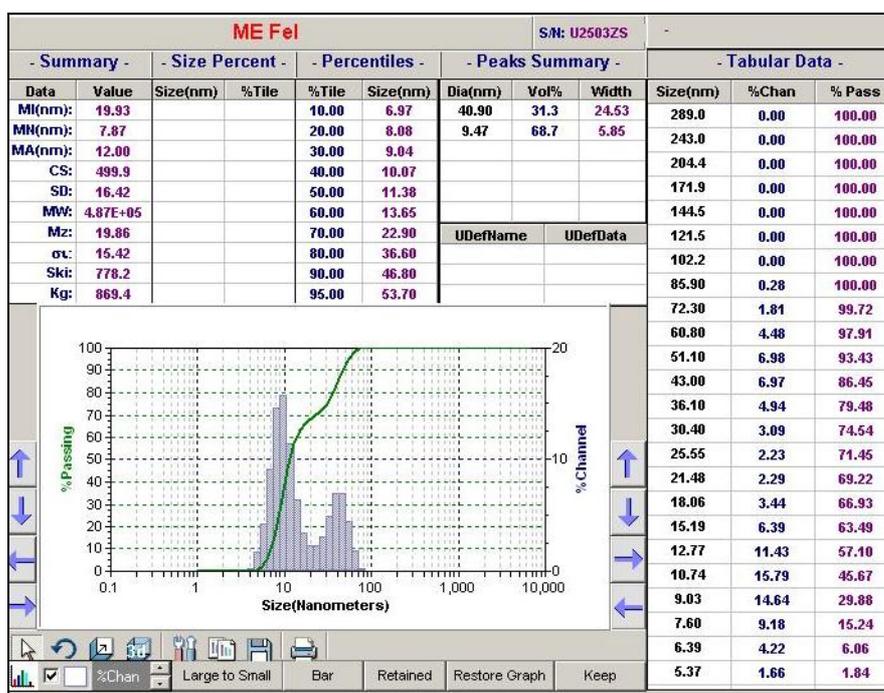


Рис. 37. Распределение частиц по размерам для микроэмульсии с лекарством (МЭ_Ф) по данным фотонкорреляционной спектроскопии (Zetasizer™).

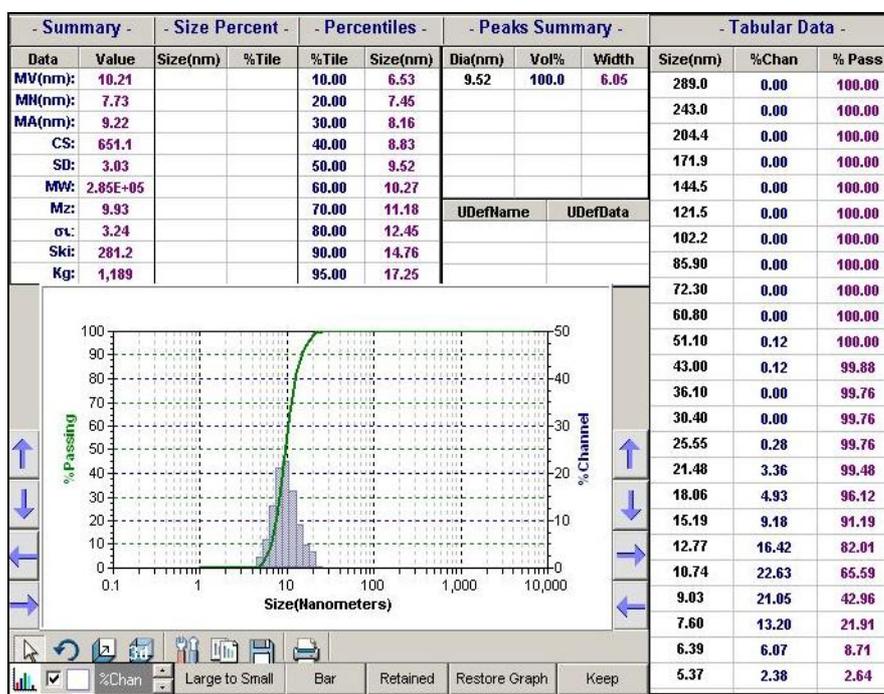


Рис. 38. Результаты дисперсионного анализа для раствора Твин 80 в бинарном растворителе вода/ПГ (1/1, масс.), являющего дисперсионной средой микроэмульсии МЭ_Ф.

Показано, что в дисперсионной среде присутствуют мицеллы Твин 80 (рис. 38), размеры которых совпадают с размерами мелкодисперсной фракции, обнаруженной для МЭ_Ф (рис. 38 и 39). Таким образом, если в состав прямой микроэмульсии включен полярный соразтворитель (в данном случае ПГ), не ингибирующий мицеллообразования, а концентрации ПАВ и масляной фазы не слишком велики (табл. 17), то в МЭ сосуществуют два типа самоорганизованных структурных форм (прямые мицеллы и наноразмерные капли).

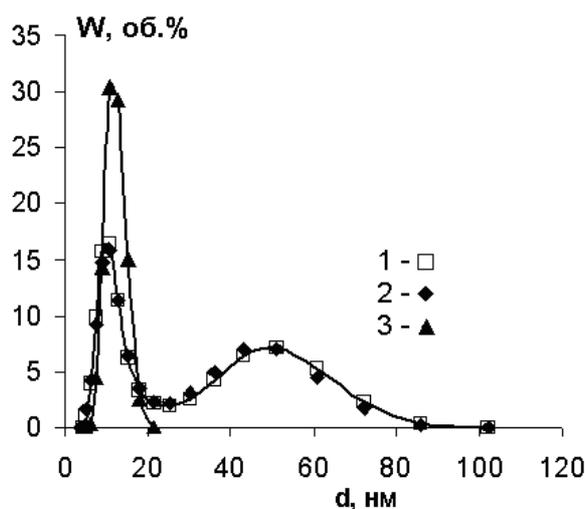


Рис. 39. Дифференциальные кривые распределения частиц по размерам для микроэмульсии МЭ_Ф (1 – через сут, 2 – через три месяца) и для ее дисперсионной среды (3).

Способность микроэмульсии МЭ_Ф выделять фелодипин была исследована с помощью ячейки Франца. Результаты представлены на рис. 40, из которого видно, что за все время наблюдения (четверо сут) скорость массопереноса лекарства постоянна и составляет $87.5 \text{ мкг}/(\text{см}^2 \cdot \text{ч})$, что примерно в 30 раз превышает верхнюю границу целевой скорости для данного лекарства [175]. Также на рис. 40 (кривая 2) для 0.109 М водного раствора Твин 80 (что соответствует концентрации данного НПАВ в дисперсионной среде микроэмульсии МЭ_Ф) приведены результаты расчетов количества фелодипина, которое могла бы обеспечить диффузия мицелл, в которых он солюбилизирован. Расчет выполнен в рамках простой диффузионной теории на основе данных о свойствах мицелл Твин 80+Ф, полученных нами [233]. Видно (рис. 40), что более эффективный массоперенос

лекарства наблюдается для микроэмульсии, нежели для мицеллярного раствора, при этом за четверо суток из МЭ_Ф выделилось лишь 6.5 % фелодипина, изначально находившегося в донорной части ячейки, что свидетельствует о возможности дальнейшей пролонгированной доставки препарата.

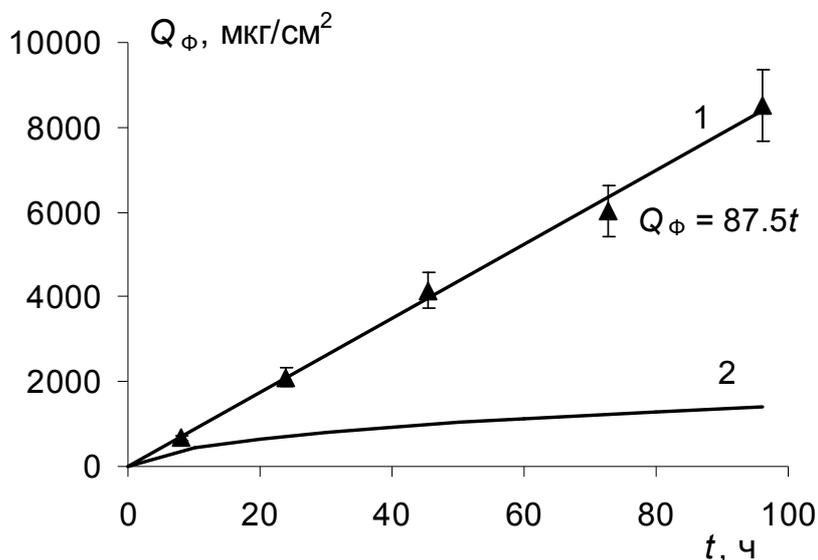


Рис. 40. Кинетика массопереноса фелодипина микроэмульсией МЭ_Ф (1 – эксперимент) и мицеллами Твин 80 в водной среде (2 – расчет на основе данных о числах агрегации компонентов мицелл Тв + Ф в рамках диффузионной теории [233]). Концентрация Твин 80 одинакова в обоих случаях.

Таким образом, полученная прямая микроэмульсия МЭ_Ф является очень эффективным носителем фелодипина [317] и может быть использована в трансдермальных пластырях резервуарного типа (при условии уменьшения концентрации лекарства), а также для получения гелей, мазей и кремов медицинского назначения. Более того, мы посчитали перспективной гипотезу о возможности получения микрогетерогенной полимерной адгезивной матрицы на основе прямой микроэмульсии с лекарством и растворов липофильного АЧД (см. далее гл. 7).

4.3. Прямые микроэмульсии на основе изопропилмиристата (УП кожи) с инкорпорированным амлодипином

Микроэмульсия для эффективного трансдермального массопереноса амлодипина должна удовлетворять условиям, изложенным нами ранее (стр. 105). В

качестве масляной фазы МЭ использован изопропилмирикат, обладающий свойствами усилителя проницаемости кожи и часто применяемый в микроэмульсионных композициях для трансдермальной доставки лекарств различной полярности [303, 307, 321–323].

Твин 80 как основное стабилизирующее НПАВ и этанол в качестве со-ПАВ были выбраны нами по двум причинам. Во-первых, эти компоненты увеличивают проницаемость кожи [316], во-вторых, для псевдотрехкомпонентных систем вода / Твин 80 / этанол / ИПМ известны фазовые диаграммы при различных соотношениях ПАВ/со-ПАВ (2:1, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, по массе) [260, 303]. Соотношение 1:1 считают оптимальным, поскольку при этом на фазовой диаграмме наблюдают наиболее обширную область макроскопически однофазных систем (рис. 41), которую авторы [260, 303] считают соответствующей МЭ, однако без подтверждения структурной организации исследуемых систем.

На основании изложенного выше соотношение Твин 80/этанол выбрано нами равным 1:1 и приготовлена 4-х компонентная композиция, содержащая воду, Твин 80, этанол и ИПМ. Эта смесь оказалась макроскопически однофазной, на фазовой диаграмме (см. рис. 41) она обозначена точкой С1.

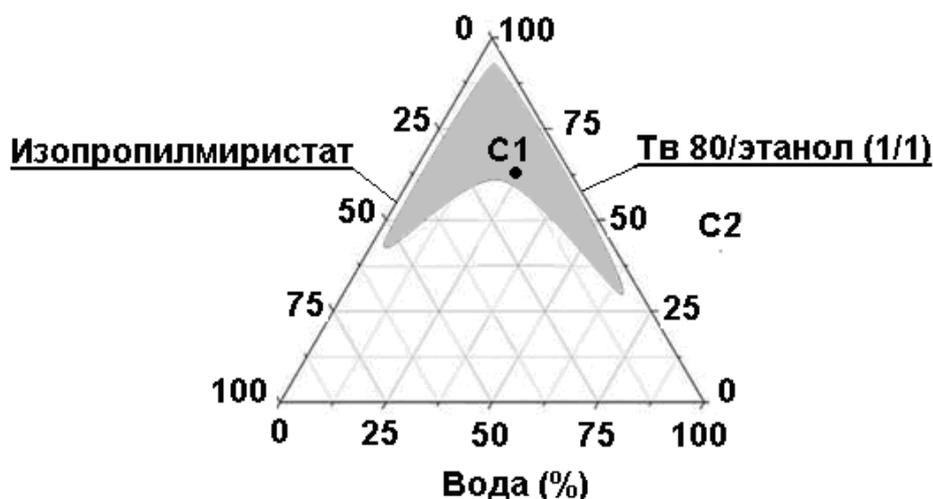


Рис. 41. Псевдотрехкомпонентная фазовая диаграмма для системы вода/Твин 80/этанол/изопропилмирикат при массовом соотношении Твин 80/этанол 1:1 [260]. Точка С1 характеризует состав полученный нами микроэмульсии МЭ1 без лекарства.

Композиция С1 была изучена методами поляризационной микроскопии, кондуктометрии и динамического рассеяния света, соответственно подтвердившими оптическую изотропность, наличие токопроводящих свойств ($\kappa = 62$ мкСм/см при 25°C) и присутствие наноразмерных частиц (средний диаметр $d_{cp} = 14$ нм), что позволяет классифицировать композицию С1 как МЭ типа М/В. Далее эту микроэмульсию будем обозначать как МЭ1, ее состав приведен в табл. 18.

Таблица 18. Составы микроэмульсий с амлодипином и без него при постоянном соотношении Твин 80/этанол (1/1, масс.)

Компонент	Микроэмульсия			
	МЭ1	МЭ _{Ам1}	МЭ2	МЭ _{Ам2}
	Концентрация компонентов, масс. %			
Амлодипин	0	8.0	0	8.0
ИПМ	13.0	12.0	11.7	10.8
Вода	24.0	22.1	33.7	31.0
Твин 80	31.5	29.0	24.6	22.6
Этанол	31.5	29.0	27.3	25.1
ГПЦ	0	0	2.7	2.5

Данные дисперсионного анализа для МЭ1 представлены на рис. 42 (кривая 1), из которого видно, что распределение частиц по размерам имеет мономодальный характер. В микроэмульсии присутствуют только наноразмерные капли, что обычно и наблюдается. Это отличает данную микроэмульсию от МЭ_Ф, где нами обнаружено сосуществование двух типов самоорганизованных ансамблей – мицелл Твин 80 и наноразмерных капель масляной фазы (раздел 4.2.). Действительно, в дисперсионной среде микроэмульсии МЭ1 соотношение полярных компонентов вода/этанол примерно равно 3:4 (см. табл. 18). В таких условиях мицеллы Твин 80 формироваться не будут.

К сожалению, как видно из табл. 18, концентрация Твин 80 в микроэмульсии МЭ1 достаточно высокая. Для ее уменьшения мы добавили незначительное количество дополнительного стабилизатора – гидроксипропилцеллюлозы ($M_w = 80$ кДа), которая является гидрофильным полимером. На наш взгляд,

целесообразность добавки ГПЦ обусловлена также ее способностью сорбировать биологические жидкости, что немаловажно при создании полимерных гидрофобных адгезивных матриц. Можно предположить, что ГПЦ позволит сформировать гидрофильные каналы для интенсивного проникновения влаги из кожи внутрь адгезива, по которым водорастворимые формы лекарства (солюбилизированного в мицеллах или МЭ) будут диффундировать к коже. Состав композиции, содержащей ГПЦ и обозначенной как МЭ2, приведен в табл. 18. Видно, что удалось заметно уменьшить содержание Твин 80 и этанола, что немаловажно.

Композиция МЭ2 была визуально прозрачна, оптически изотропна, ее удельная электропроводность составила 84 мкСм/см (25°C), а средний диаметр частиц – 15 нм, что позволяет классифицировать ее как прямую микроэмульсию. Распределение частиц по размерам для МЭ2 было мономодальным (рис. 42, кривая 2).

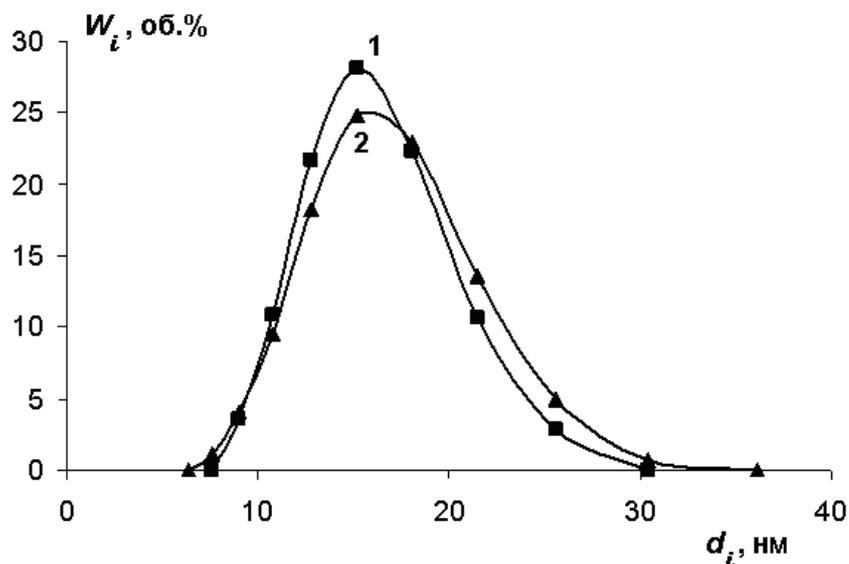


Рис. 42. Дифференциальные функции распределения частиц по размерам $W_i(d_i)$ для микроэмульсий без лекарства: МЭ1 – 1, МЭ2 – 2.

Подтверждением принадлежности МЭ1 и МЭ2 к термодинамически устойчивым дисперсным системам была их стабильность в течение всего периода наблюдений (более года). Обе микроэмульсии хорошо растворяли амлодипин, он был добавлен в МЭ1 и МЭ2 через месяц после их приготовления. Микроэмульсии с

лекарством были соответственно обозначены как МЭ_{Ам1} и МЭ_{Ам2}, обе содержали 8 масс. % амлодипина (табл. 18). Свойства микроэмульсий с лекарством были практически аналогичны свойствам МЭ, на основе которых они были получены, с той лишь разницей, что имели более высокие значения удельной электропроводности (108 и 127 мкСм/см для МЭ_{Ам1} и МЭ_{Ам2}, соответственно). Микроэмульсии с лекарством также были стабильны практически неограниченное время. На рис. 43 представлена МЭ_{Ам1} через 109 сут после приготовления, хранившаяся при комнатной температуре в защищенном от света месте.



Рис. 43. Визуально прозрачная стабильная микроэмульсия МЭ_{Ам1} через 109 сут после приготовления.

Выделение Ам из микроэмульсий через кожу человека (*in vitro*) изучали с помощью диффузионной ячейки Франца. При этом фиксированное количество МЭ (50 мкл) наносили на образец кожи, которую помещали на отверстие диффузионной ячейки. Кинетические зависимости количества амлодипина (Q), выделившегося из микроэмульсии и продиффундировавшего через кожу (в расчете на см^2), приведены на рис. 44. Видно, что для МЭ_{Ам2} наблюдается более интенсивный трансдермальный массоперенос амлодипина, чем для МЭ_{Ам1}. Напомним, что в состав исследованных МЭ входят сразу 4 компонента, способных увеличивать проницаемость кожи, а именно – ИПМ, этанол, Твин 80 и вода. В микроэмульсии МЭ_{Ам2} массовая концентрация первых 3-х компонентов меньше, а концентрация воды больше (табл. 18). Таким образом, большая эффективность МЭ_{Ам2} в качестве донора амлодипина при трансдермальной доставке, по-

видимому, обусловлена более высокой концентрацией воды, которую, однако невозможно было обеспечить без добавки ГПЦ.

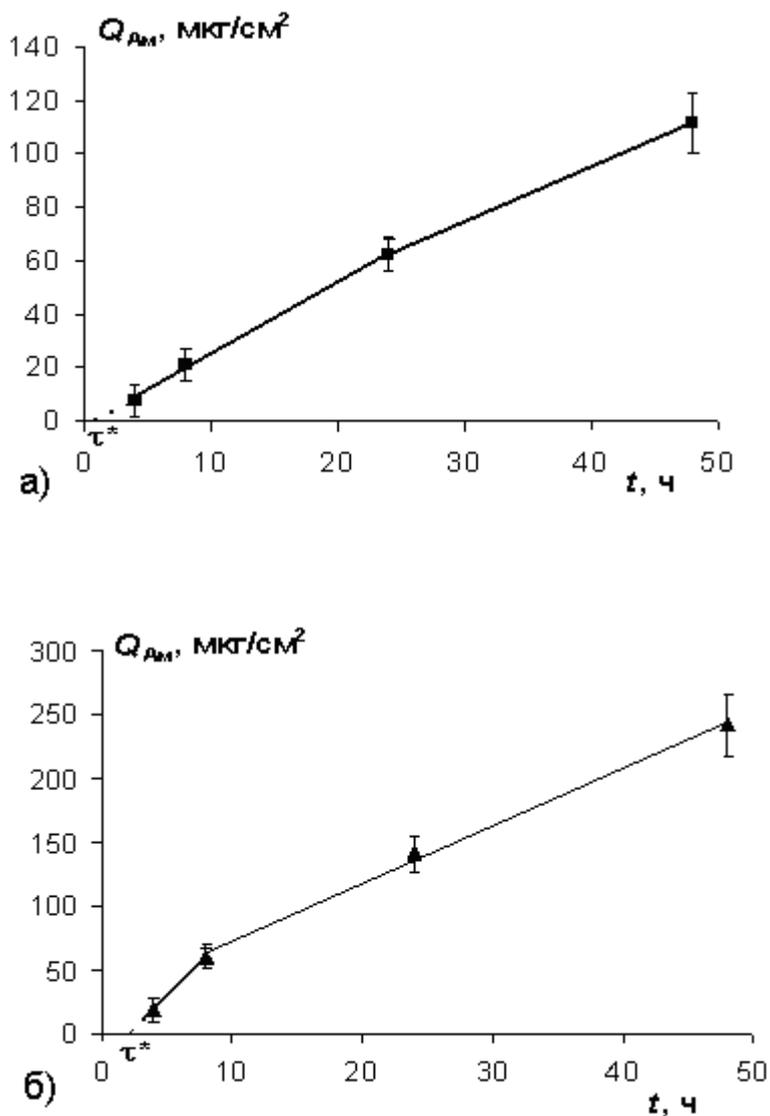


Рис. 44 (а, б). Кинетика трандермального массопереноса амлодипина из прямых микроэмульсий МЭ_{ам1} (а) и МЭ_{ам2} (б) через кожу человека в опытах *in vitro* (кожа средней проницаемости, для которой скорость массопереноса окситрола равна 2.5 мкг/(см² ч)).

На рис. 44 видно, что для обеих МЭ наблюдается период задержки (τ^*), в течение которого не происходит проникновения амлодипина через кожу. Также видно, что скорость трандермального массопереноса dQ/dt , которую определяют из тангенсов углов наклона линейных участков кинетической зависимости $Q(t)$, изменяется во времени в обоих случаях. Параметры, характеризующие

трансдермальный массоперенос амлодипина для изученных МЭ, приведены в табл. 19. Несмотря на более длительную задержку при выделении Лк (2.2 ч), результаты для МЭ_{Ам2} оказались предпочтительнее, поскольку в интервале 2.2–4.0 ч наблюдается высокая целевая скорость доставки Ам, далее эта скорость уменьшается почти вдвое, но остается постоянной в течение времени наблюдения (рис. 44 и табл. 19). Для МЭ_{Ам1} и МЭ_{Ам2} за время наблюдения (48 ч) соответственно выделилось лишь 6.3 и 3.0 % амлодипина, что позволяет прогнозировать его дальнейшую пролонгированную доставку.

Таблица 19. Параметры, характеризующие трансдермальный массоперенос Ам из микроэмульсий МЭ_{Ам1} и МЭ_{Ам2}

Микро-эмульсия	τ^* , ч	dQ/dt мкг/(см ² ч)	«Загрузка» Ам, мкг/ячейку	Выход Ам, %
МЭ _{Ам1}	0.6±0.1	2.7±0.1 (0.6 ≤ t ≤ 24 ч)	3761	6.3
		2.0±0.1 (24 ≤ t ≤ 48 ч)		
МЭ _{Ам2}	2.2±0.2	10.4 ±1.0 (2.2 ≤ t ≤ 4 ч)	3811	3.0
		4.5±0.5 (4 ≤ t ≤ 48 ч)		

τ^* – период задержки и dQ/dt – скорость трансдермального массопереноса

Следует отметить, что увеличение скорости трансдермального массопереноса амлодипина может быть достигнуто за счет увеличения его концентрации в МЭ. Такая возможность есть, поскольку амлодипин хорошо растворим в разработанных микроэмульсиях. Далее будет исследована возможность инкорпорирования прямых МЭ с повышенным содержанием амлодипина в растворы липофильного АЧД с целью получения микрогетерогенных полимерных матриц для трансдермальной доставки данного Лк (см. гл. 7).

Глава 5. МИНИЭМУЛЬСИИ МАСЛО/ВОДА С ИНКОРПОРИРОВАННЫМИ ЛИПОФИЛЬНЫМИ ЛЕКАРСТВАМИ

5.1. Роль оствальдова созревания в устойчивости миниэмульсий углеводород/вода (обзор)

Эмульсии с субмикронными размерами частиц обладают высокоразвитой межфазной поверхностью с избыточной свободной энергией, что обуславливает их термодинамическую неустойчивость и необходимость подбора соответствующих факторов стабилизации. Такие эмульсии являются актуальными с фундаментальной точки зрения объектами современной коллоидной химии. Стабильные субмикронные эмульсии (миниэмульсии) перспективны для использования в фармацевтике, косметологии и химической индустрии [324, 325]. В частности, миниэмульсии масло/вода (М/В) способны иммобилизовывать в дисперсной фазе липофильные лекарства, служить премиксами при получении двойных эмульсий масло₁/вода/масло₂ (М₁/В/М₂), которые, в свою очередь, могут являться основой микрогетерогенных полимерных матриц с хорошей адгезией к коже для трансдермальной доставки лекарств [326].

Известно [327–333], что ключевым механизмом разрушения прямых эмульсий, характеризующихся субмикронными размерами частиц и полидисперсностью, является оствальдово созревание (ОС), называемое также изотермической перегонкой или переконденсацией. В основе этого явления лежит закон Кельвина:

$$C_r = C_\infty \exp(P_\sigma V_m / RT) = C_\infty \exp(2\sigma V_m / rRT), \quad (33)$$

где C_r и C_∞ – соответственно растворимости капли масла с радиусом r и макрофазы ($r \rightarrow \infty$) в дисперсионной среде (как правило, воде); $P_\sigma = 2\sigma V_m / r$ – капиллярное давление; σ – межфазное натяжение; V_m – молярный объем вещества дисперсной фазы (масла).

Из выражения 33 следует, что растворимость мелких капель больше, нежели более крупных, из-за этого возникает градиент концентраций и диффузионный массоперенос молекул дисперсной фазы через дисперсионную среду от мелких капель к более крупным. Диффузия приводит к возникновению пресыщения раствора вблизи более крупных капель, осаждению вещества на их поверхности, то

есть к дальнейшему укрупнению больших капель за счет мелких (вплоть до их исчезновения). В итоге средний размер капель эмульсии возрастает во времени, а суммарная площадь межфазной поверхности уменьшается.

Теоретическое описание ОС в дисперсной системе с однокомпонентной дисперсной фазой было приведено в работах Лифшица и Слезова [334, 335], а также Вагнера [336]. Теория Лифшица–Слезова–Вагнера (ЛСВ) основывается на следующих допущениях.

1. Частицы дисперсной фазы имеют сферическую форму, фиксированы в пространстве, расстояния между ними заметно превышают их собственные размеры (объемная доля дисперсной фазы $\phi \rightarrow 0$).
2. Концентрация молекулярно растворенного вещества дисперсной фазы в дисперсионной среде постоянна и равна C_∞ , за исключением областей размером порядка r , прилегающих к частицам.
3. Скорость процесса не зависит от скорости переноса вещества через межфазную границу капля/среда, а лимитируется его молекулярной диффузией в дисперсионной среде.

В соответствии с теорией ЛСВ скорость ОС в квази-стационарных условиях постоянна и определяется следующим образом [334–336]:

$$\omega = dr_c^3/dt = 8\sigma DC_\infty V_m/9RT \cong dr_{cp}^3/dt, \quad (34)$$

где r_c – критический радиус, характеризующий частицы находящиеся в данный момент времени в состоянии неустойчивого равновесия с дисперсионной средой, при этом частицы с $r < r_c$ уменьшаются в размерах, а размеры частиц с $r > r_c$ возрастают; r_{cp} – средний радиус частиц, который аппроксимирует r_c [330, 331, 337]; D – коэффициент диффузии молекул дисперсной фазы в дисперсионной среде; концентрация C_∞ выражена в объемных долях [330, 331, 337–340].

В соответствии с теорией ЛСВ [334–336] ОС характеризуется линейной зависимостью куба среднего радиуса частиц от времени, а также инвариантностью во времени нормализованной функции распределения частиц $W(u)$, когда в качестве аргумента (u) принимается отношение r/r_c (или r/r_{cp}). Линейность $r_{cp}^3(t)$ [109, 337–341, 342–344] и независимость от времени $W(r/r_{cp})$ [331, 345–347] являются подтверждениями того, что именно ОС определяет скорость разрушения субмикронных эмульсий М/В.

Следует отметить, что уравнение ЛСВ часто используют для анализа устойчивости миниэмульсий, при этом в зависимости от размерности C_∞ его форма варьируется и может отличаться от уравнения 34. Если величина C_∞ выражена в моль/м³, в уравнении 34 вместо V_m появляется V_m^2 [109, 341]. Когда используется массовое выражение C_∞ , то в знаменатель уравнения 34 в качестве сомножителя вводится плотность вещества дисперсной фазы [342–344].

Согласно теории ЛСВ скорость ОС не должна зависеть от объемной доли дисперсной фазы (см. уравнение 34), что и подтверждается экспериментально для разбавленных эмульсий ($\varphi \leq 0.1$). Например, для прямых эмульсий перфтордекалина с различным содержанием дисперсной фазы ($\varphi = 0.007$ и 0.1), стабилизированных Проксанолом 268, наблюдалась одинаковая скорость ОС [348]. При заметном содержании дисперсной фазы необходимо учитывать взаимодействие диффузионных полей частиц, для этого в уравнение ЛСВ вводят эмпирический коэффициент $k(\varphi) > 1$, который отражает увеличение скорости переконденсации с ростом φ [349–352].

Снижение скорости ОС при уменьшении растворимости вещества дисперсной фазы в дисперсионной среде, прогнозируемое теорией ЛСВ, подтверждают литературные данные [328–330, 353, 354], согласно которым прямые эмульсии на основе более длинноцепочечных и менее растворимых в воде углеводородов оказываются более стабильными. Например, показано [328, 355], что при одинаковых условиях получения прямые эмульсии гексадекана (стабилизатор – додецилсульфат натрия) гораздо более стабильны, чем эмульсии гексана. Более того, если дисперсная фаза достаточно хорошо растворима в воде (как, например, толуол, гексан, гептан), ОС остается причиной деградации не только субмикронных эмульсий, но и макроэмульсий ($r_{cp} \geq 1$ мкм) [333, 352]. В работе [352] переконденсацию наблюдали для эмульсий гептан/вода с микронными размерами частиц (2–12 мкм), стабилизированных Аэрозолем ОТ, причем ее скорость уменьшалась при повышении концентрации NaCl (от 0 до 0.035 М) в дисперсионной среде.

Таким образом, для прямых эмульсий с однокомпонентной дисперсной фазой скорость ОС может быть уменьшена при использовании плохо растворимых в воде

масел, а также при снижении межфазного натяжения за счет адсорбции стабилизатора из дисперсионной среды (см. уравнение 34).

Ингибирование изотермической перегонки в результате добавления в дисперсную фазу прямой эмульсии второго компонента, который гораздо хуже растворим в дисперсионной среде, чем основной липофильный компонент, впервые было предсказано и экспериментально проверено Хигучи и Мизрой [327] на примере эмульсий четыреххлористого углерода в воде с добавкой гексадекана (1 масс. %). Дэвис и Смит [328, 355] также обнаружили, что малые добавки (0.1–1 %) декана, додекана или гексадекана заметно стабилизируют эмульсии гексан/вода. Наблюдаемый ингибирующий эффект добавки обусловлен следующими причинами [331, 332]. Первоначально композиционный состав всех капель одинаков. Диффузионный массоперенос основного компонента (от мелких капель к более крупным) будет заметно интенсивнее, вследствие его большей растворимости в дисперсионной среде, что приведет к изменению композиционного состава капель эмульсии. В мелких каплях, где аккумулируется малорастворимая добавка, концентрация основного компонента уменьшается, тогда, как в более крупных каплях его концентрация повышается. В результате, химический потенциал основного компонента в крупных каплях увеличивается, а в мелких уменьшается, что будет компенсировать разницу химических потенциалов, обусловленную различием в радиусах кривизны капель и являющуюся причиной ОС. При полной компенсации капиллярных эффектов концентрационными диффузионный массоперенос прекращается. В рамках теории ЛСВ в работах Кабальнова с соавторами [355–357], посвященных изотермической перегонке в прямых эмульсиях с двухкомпонентной дисперсной фазой, эти представления получили количественное выражение.

В случае полной нерастворимости добавки (2-го компонента) в дисперсионной среде и при условии независимости межфазного натяжения от состава дисперсной фазы условием устойчивости эмульсии относительно ОС является следующее соотношение [357]:

$$X_{02} > 2\sigma V_{m1}/3RT r_{0cp},$$

где X_{02} и r_{0cp} – соответственно мольная доля добавки в дисперсной фазе и средний радиус капель в начальный момент времени, V_{m1} – молярный объем основного компонента дисперсной фазы.

Если второй компонент дисперсной фазы обладает малой, но конечной растворимостью в дисперсионной среде ($C_{\infty 2} \ll C_{\infty 1}$, $C_{\infty 2} \neq 0$), скорость перекоденсации уменьшается, но остается отличной от нулевой. При этом кинетика процесса, как и в случае систем с однокомпонентной дисперсной фазой, характеризуется линейным ростом куба среднего радиуса со временем и инвариантностью нормализованной функции распределения $W(r/r_{cp})$, однако будет определяться следующим выражением [355, 357]:

$$\omega = dr_{cp}^3/dt = 8\sigma V_{m1} D_2 C_{\infty 2} / 9\varphi_2 RT, \quad (35)$$

где φ_2 – объемная доля второго компонента в дисперсной фазе; D_2 – его коэффициент диффузии в дисперсионной среде.

Уравнение 35 справедливо при условии $\varphi_2 \geq C_{\infty 2} / C_{\infty 1}$, в противном случае скорость ОС будет определяться диффузионным массопереносом основного компонента (см. уравнение 34) [355, 357].

Предложено также приближенное уравнение, учитывающее вклад обоих компонентов дисперсной фазы в скорость перекоденсации [355, 357]:

$$\omega = dr_{cp}^3/dt = (\varphi_1/\omega_1 + \varphi_2/\omega_2)^{-1}, \quad (36)$$

где φ_1 – объемная доля основного компонента в дисперсной фазе; ω_1 и ω_2 – скорости ОС для эмульсий индивидуальных компонентов, которые могут быть рассчитаны по уравнению ЛСВ (уравнение 34).

Уравнение 36 получено [355, 357] при условии пренебрежения различием молярных объемов компонентов дисперсной фазы $V_{m1}/V_{m2} \cong 1$. При этом, если $\varphi_2 > C_{\infty 2} / C_{\infty 1}$, скорость ОС определяется массопереносом добавки, то есть уравнением 35:

$$\omega = dr_{cp}^3/dt \cong \omega_2/\varphi_2 = 8\sigma V_{m2} D_2 C_{\infty 2} / 9\varphi_2 RT \cong 8\sigma V_{m1} D_2 C_{\infty 2} / 9\varphi_2 RT.$$

Если же $\varphi_2 \leq C_{\infty 2} / C_{\infty 1}$, то, как следует из уравнения 36, кинетика процесса будет определяться скоростью ОС основного компонента $\omega = \omega_1$ (см. уравнение 34), то есть примесь не будет оказывать влияния [355, 357].

Теоретические представления, развитые в работах Кабальнова с соавторами, нашли экспериментальное подтверждение [333, 351, 356, 358], в том числе, на

примере субмикронных прямых эмульсий перфторорганических соединений, являющихся эффективными переносчиками кислорода, что важно для создания искусственных заменителей крови. Ингибирование ОС за счет введения в дисперсную фазу малорастворимой в воде добавки (не влияющей на межфазное натяжение) эффективно используется для получения стабильных прямых миниэмульсий, в частности, при разработке практически значимых лекарственных, пищевых и парфюмерных эмульсионных композиций [338, 359–363].

Следует отметить, что до настоящего времени, получение стабильных относительно ОС прямых миниэмульсий на основе достаточно хорошо растворимых в воде углеводов (гексана, гептана) остается сложной и нерешенной задачей. Однако миниэмульсии именно этих углеводов, которые являются хорошими растворителями ряда полимерных адгезивов, чувствительных к давлению, могут служить премиксами двойных эмульсий – основы полимерных пленок для трансдермальной доставки лекарств [326]. Кроме того, отсутствует информация о влиянии на ОС липофильных добавок в дисперсную фазу эмульсий, которые снижают межфазное натяжение на границе капля/среда.

В задачи данной работы входило изучение влияния одобренных для трансдермального применения компонентов (гидрофильных стабилизаторов, липофильных лекарств и усилителя проницаемости кожи) [364–369], обладающих поверхностной активностью и различной растворимостью в воде, на ОС в субмикронных эмульсиях гептан/вода.

5.2. Ингибирование оствальдова созревания – ключевого механизма дестабилизации миниэмульсий гептан/вода

Ультразвуковое диспергирование (диспергатор УЗДН-А, Россия) на частоте 22 кГц применяли для приготовления эмульсий. Для того, чтобы исключить коагуляцию, а также возможное влияние объемной доли дисперсной фазы на ОС, использовали предельно разбавленные эмульсии гептана в воде ($\varphi = 0.01–0.03$). Объем образца эмульсии составлял 10 см^3 , а время диспергирования – 20 сек. Эмульсия содержала единственную стабилизирующую добавку во всех случаях. Гидрофильный стабилизатор находился в дисперсионной среде, в случае же

липофильного стабилизатора его насыщенный раствор в гептане использовали в качестве дисперсной фазы эмульсии.

Скорость изотермической перегонки гипотетической (в отсутствие каких-либо стабилизаторов) эмульсии гептана в воде рассчитывали в рамках теории ЛСВ по уравнению 34. При этом использовали следующие значения параметров этого уравнения: $\sigma = 49.6$ мН/м (по нашим данным), $D = 7 \cdot 10^{-10}$ м²/с [370], $V_m = 1.47 \cdot 10^{-4}$ м³/моль (при 22°C), $C_\infty = 4.99 \cdot 10^{-6}$ об. д. ($3.39 \cdot 10^{-5}$ М или 3.4 мг/л) [371]. Значение скорости $\omega_{\text{ЛСВ}}$ оказалось равным 9610 нм³/с.

Миниэмульсии с однокомпонентной дисперсной фазой, содержащие гидрофильный стабилизатор в дисперсионной среде.

В первую очередь были исследованы эмульсии с однокомпонентной дисперсной фазой, содержащие гидрофильный стабилизатор в дисперсионной среде. Состав эмульсий Эм1 и Эм2, стабилизированных соответственно Тв и ГПЦ, представлен в табл. 20. Для выяснения механизма деградации эмульсий на основе дисперсионного анализа привлекали данные тензиометрических измерений [372]. На рис. 45 приведены изотермы межфазного натяжения $\sigma(\ln C)$ для водных растворов исследованных гидрофильных стабилизаторов на границе с гептаном. Показано, что при адсорбции из водной фазы ГПЦ и Твин 80 уменьшают σ от 49.6 до 10.5 и 5.5 мН/м, соответственно. При этом поверхностная активность $G = \lim_{c \rightarrow 0} (-d\sigma/dC)$ [109] полимера, равная $5.7 \cdot 10^8$ мН/(м·М), оказалась на 2 порядка величины больше, чем у НПАВ ($G_{\text{Тв}} = 7.3 \cdot 10^6$ мН/(м·М)). Значение предельной адсорбции Тв на границе гептан/вода рассчитано с помощью уравнения Гиббса ($\Gamma_{\text{max}} = 3.36 \cdot 10^{-6}$ моль/м²) [372].

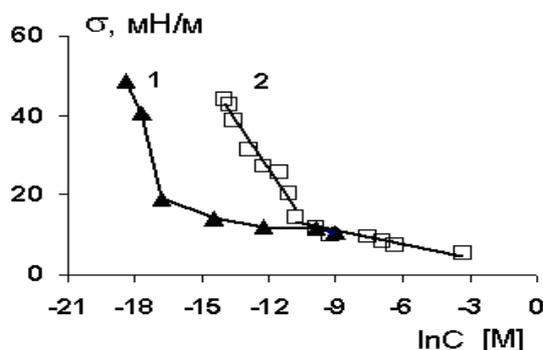


Рис. 45. Изотермы межфазного натяжения водных растворов ГПЦ (1) и Твин 80 (2) на границе с гептаном при 22°C.

Если концентрация Тв в дисперсионной среде превышает ККМ, в ней самопроизвольно возникают мицеллы. Известно [333, 360, 373, 374], что мицеллы ПАВ участвуют в массопереносе вещества дисперсной фазы за счет солубилизации, увеличивая скорость ОС в прямых эмульсиях. Впрочем, иногда утверждается [375], что мицеллы не оказывают влияния на ОС. Последнее утверждение, на наш взгляд, может быть обусловлено отсутствием учета количества стабилизатора, адсорбированного на высокоразвитой межфазной границе эмульсии, при этом остаточная концентрация ПАВ в дисперсионной среде вполне может оказаться гораздо меньше начальной концентрации и ККМ, мицеллы образовываться не будут и, соответственно, их влияние на ОС не будет наблюдаться. Чтобы исключить увеличение скорости ОС за счет вклада мицелл в массоперенос гептана, концентрация Тв подбиралась таким образом, чтобы обеспечивалась максимальная адсорбция на межфазной границе, а также отсутствие мицелл в дисперсионной среде. На основе изотермы межфазного натяжения для водных растворов Тв на границе с гептаном [372] и предварительных опытов по дисперсионному анализу, позволивших оценить площадь межфазной поверхности эмульсии, была выбрана соответствующая концентрация стабилизатора ($C_{Тв} = 1.48$ мМ).

Результаты дисперсионного анализа для Эм1, стабилизированной Тв, при различных значениях времени (с момента приготовления эмульсии) представлены на рис. 46–48. Дифференциальные функции распределения частиц по размерам $W_i(d_i)$ (рис. 46а), свидетельствуют о субмикронных размерах частиц эмульсии, диаметр наиболее крупных капель не превышает 1 мкм, что позволяет классифицировать Эм1 как миниэмульсию. Также видно (рис. 46б), что нормализованная функция распределения $W_i(d_i/d_{cp})$ инвариантна во времени, а куб среднего радиуса частиц линейно возрастает с ростом t (рис. 47), что подтверждает определяющую роль ОС в деградации Эм1. Рис. 48, на котором для частиц разных размеров представлены кинетические зависимости их количества (W_i , об. %), также демонстрирует типичные для переконденсации эмульсий закономерности, когда количество мелких частиц уменьшается, более крупных – возрастает, а частиц средних размеров остается примерно постоянным.

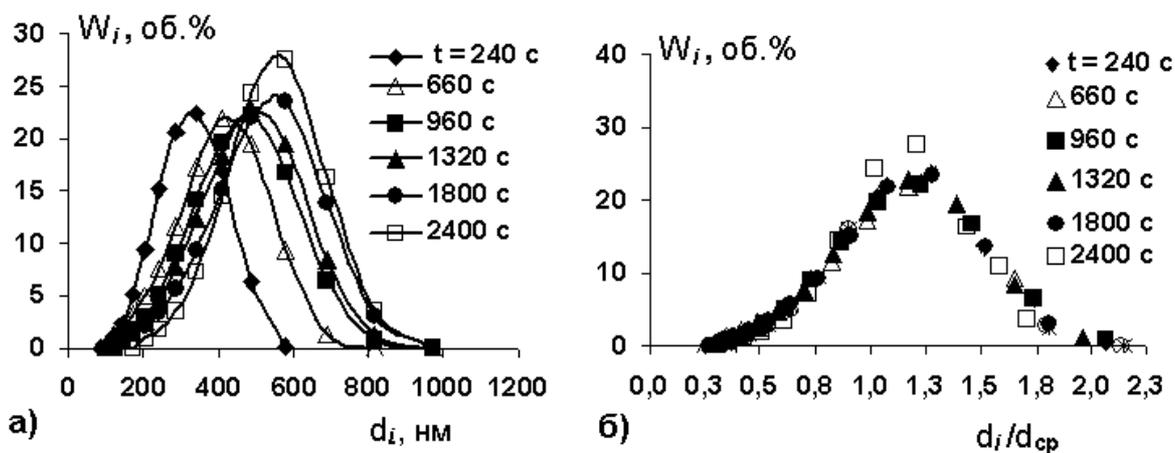


Рис. 46 (а, б). Стандартная (а) и нормализованная (б) формы дифференциальных функций распределения частиц по размерам при различных временах существования миниэмульсии Эм1, стабилизированной Тв ($C_{ТВ} = 1.48$ мМ). Объемная доля гептана составляла 0.02.

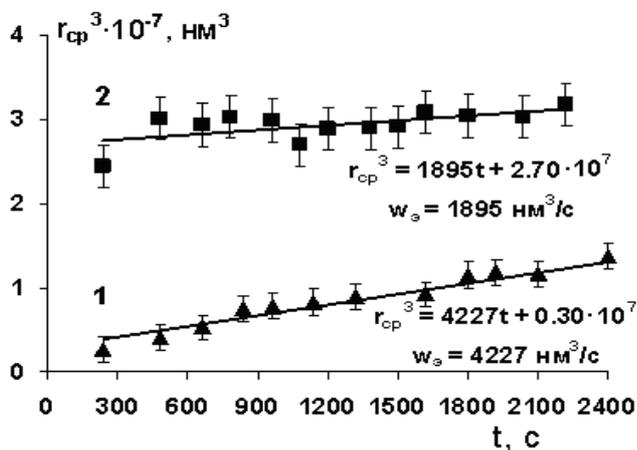


Рис. 47. Зависимости куба среднего радиуса частиц от времени для миниэмульсий Эм1 и Эм2, соответственно стабилизированных Тв (1 – $C_{ТВ} = 1.48$ мМ) и ГПЦ (2 – $C_{ГПЦ} = 0.57$ мМ).

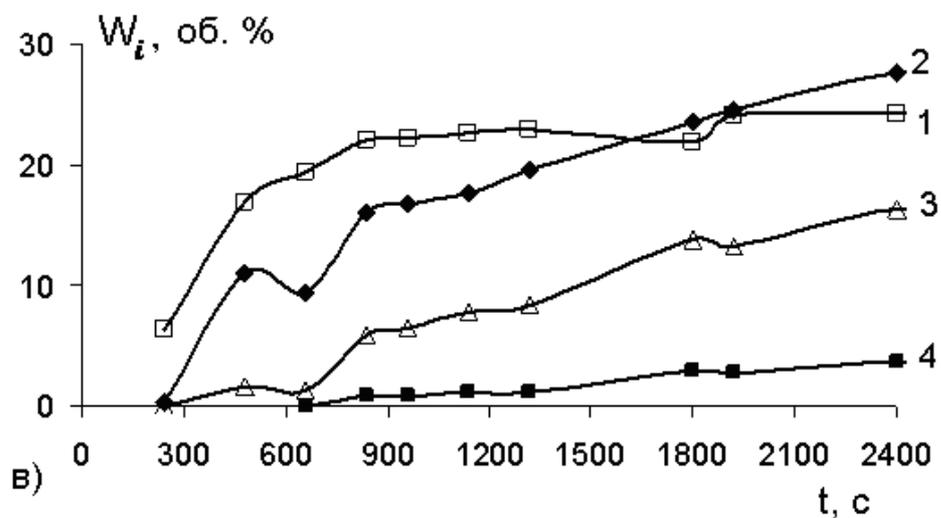
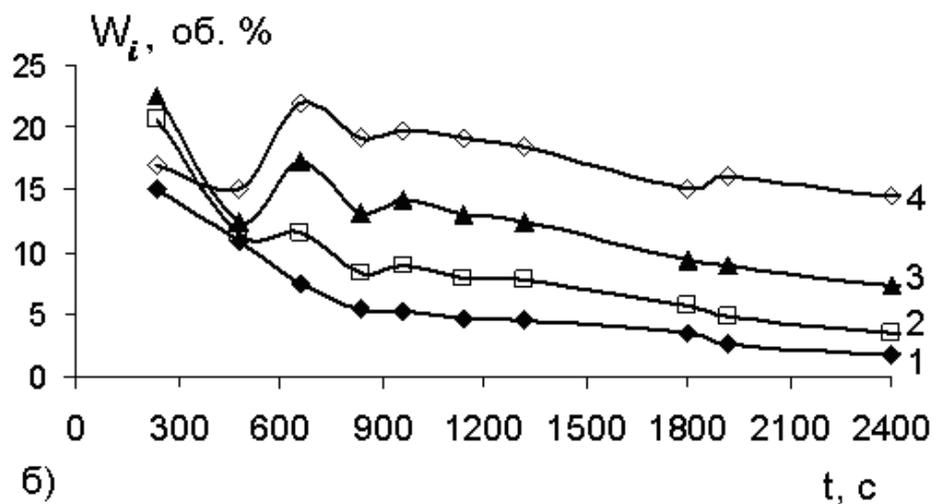
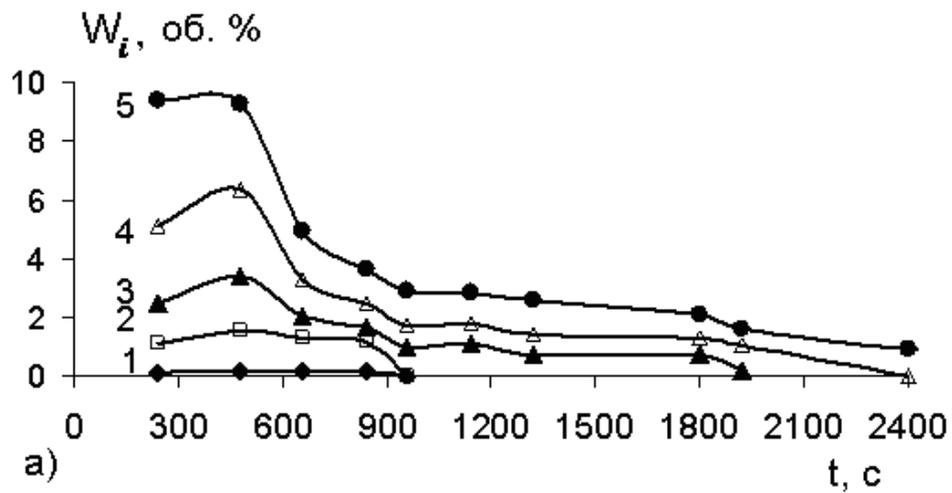


Рис. 48 (а, б, в). Изменение во времени количества частиц определенного размера (W_i) для миниэмульсии Эм1, стабилизированной Тв ($C_{Тв} = 1.48$ мМ): (а) – $d_i = 102.2$ нм (1), 121.5 (2), 144.5 (3), 171.9 (4) и 204.4 (5); (б) – $d_i = 243$ нм (1), 289 (2), 344 (3) и 409 (4); (в) – $d_i = 486$ нм (1), 578 (2), 687 (3) и 818 (4).

Объем гептана в образце эмульсии и ее фракционный состав известны (см. рис. 46а), что позволило рассчитать суммарную площадь межфазной поверхности S_{Σ} ($\text{м}^2/10 \text{ см}^3$ эмульсии) при различных значениях времени. В табл. 20 представлено значение S_{Σ} для свежеприготовленной эмульсии Эм1. Для оценки остаточной (после адсорбции) молярной концентрации Тв в дисперсионной среде (C_k) была рассчитана суммарная площадь межфазной поверхности частиц миниэмульсии, содержащихся в 1 л дисперсионной среды ($S_{\Sigma}^* = 10^3 S_{\Sigma} / (1 - \varphi) = 437.76 \text{ м}^2 / 1.02 \text{ л. эмульсии}$). Максимально возможное количество Тв, которое может быть адсорбировано из 1 л дисперсионной среды на межфазной поверхности Эм1, оценивали как $\Gamma_{\text{max}} \cdot S_{\Sigma}^*$ (где $\Gamma_{\text{max}} = 3.36 \cdot 10^{-6} \text{ моль/м}^2$ получено нами на основе тензиометрических измерений [372]), вычитая это количество из исходной молярной концентрации Твин 80 в дисперсионной среде, получали значение C_k , которое оказалось равным $1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, что меньше ККМ. Из изотермы $\sigma(\ln C_{\text{Тв}})$ (рис. 45) по значению остаточной концентрации Тв определяли минимально возможное значение межфазного натяжения для миниэмульсии Эм1 (см. табл. 20) и далее по уравнению (34) рассчитывали минимально возможную скорость ОС ($\omega_{\text{ЛСВ}}$). Из табл. 20 видно, что экспериментально найденное из функции $r_{\text{cp}}^3(t)$ (рис. 47) значение скорости переконденсации ($\omega_{\text{э}}$) для Эм1 хорошо согласуется со значением $\omega_{\text{ЛСВ}}$, рассчитанным по теории ЛСВ.

Зависимости $W(d_i)$, $W(d_i/d_{\text{cp}})$, $W_{di}(t)$ и $r_{\text{cp}}^3(t)$, полученные для эмульсии Эм2, стабилизированной ГПЦ, были аналогичны соответствующим функциям для Эм1. Они подтвердили субмикронные размеры частиц и определяющую роль ОС при понижении дисперсности миниэмульсии Эм2. Из линейной функции $r_{\text{cp}}^3(t)$ (рис. 47) найдено экспериментальное значение скорости дегградации Эм2 ($\omega_{\text{э}}$, табл. 20).

Для миниэмульсии Эм2, стабилизированной поверхностно-активным полимером, расчет значения $\omega_{\text{ЛСВ}}$ в рамках теории ЛСВ (уравнение 34) может быть лишь весьма приблизительным. В данном случае, величина Γ_{max} не может быть определена на основе тензиометрических данных и уравнения Гиббса, поскольку обратимость адсорбции ГПЦ не очевидна, что делает некорректным применение данного уравнения. Экспериментальная изотерма $\sigma(\ln C)$ для водных растворов ГПЦ на границе с гептаном (рис. 45), свидетельствует о том, что при изменении концентрации ГПЦ на 4 порядка величины (от $6.75 \cdot 10^{-8}$ до $5.0 \cdot 10^{-4} \text{ М}$) межфазное

натяжение изменяется незначительно (от 15 до 10 мН/м). Площадь межфазной поверхности миниэмульсии Эм2 более чем в 2 раза меньше, чем у Эм1 (см. табл. 20), тогда как площадь, занимаемая адсорбированной молекулой ГПЦ, по-видимому, заметно больше, чем молекулой Тв. Следует напомнить, что для Эм1 исходная и остаточная концентрации Тв в дисперсионной среде различались на 2 порядка величины. Это позволяет предположить, что адсорбция ГПЦ на межфазной поверхности Эм2 не может привести к уменьшению концентрации стабилизатора в дисперсионной среде на 4 порядка величины по сравнению с его исходной концентрацией ($5 \cdot 10^{-4}$ М, см. табл. 20). Отсюда следует заключение, что σ межфазной границы миниэмульсии Эм2 будет находиться в пределах 15–10 мН/м, что позволяет по уравнению ЛСВ рассчитать интервал значений скорости ОС (см. табл. 20). Из табл. 2 видно, что для миниэмульсии Эм2 экспериментальное значение скорости ОС практически совпадает с нижней границей диапазона значений $\omega_{\text{ЛСВ}}$.

Следует отметить, что значения ω_3 для миниэмульсий Эм1 и Эм2, соответственно, в 2.3 и 5.1 раза меньше, чем значение $\omega_{\text{ЛСВ}}$ для гипотетической миниэмульсии гептан/вода. Таким образом, оба гидрофильных стабилизатора ингибируют ОС в соответствии с теорией ЛСВ за счет адсорбции из дисперсионной среды и уменьшения межфазного натяжения на границе капля/среда.

Миниэмульсии с липофильным стабилизатором в дисперсионной фазе.

Эмульсии гептан/вода с низким содержанием дисперсионной фазы ($\varphi = 0.01, 0.02, 0.03$ об. д.), которая представляла собой насыщенный раствор липофильного стабилизатора (ГМО, Ам, Ф) в гептане, были получены (табл. 20). Дисперсионная фаза эмульсий содержит два компонента (1-ый – гептан, 2-й – липофильный стабилизатор), поэтому для корректного анализа данных дисперсионного анализа в рамках существующих подходов [355, 357] было необходимо оценить объемную долю стабилизатора в дисперсионной фазе (φ_2) и отношение растворимостей компонентов в дисперсионной среде ($C_{\infty 2}/C_{\infty 1}$).

Таблица 20. Состав миниэмульсий гептан/вода, площадь поверхности частиц (S_{Σ}), адсорбция стабилизатора (Γ), межфазное натяжение (σ), экспериментальная (ω_3) и рассчитанная по уравнению ЛСВ ($\omega_{\text{ЛСВ}}$) скорости изотермической перегонки

Эмульсия М/В	* C_0 , М	S_{Σ} , м ² /10 см ³ эмульсии	$\Gamma \cdot 10^6$, моль/м ²	σ , мН/м	** ω_3 и $\omega_{\text{ЛСВ}}$, нм ³ /с
Гипотетическая	–	–	–	49.6	$\omega_{\text{ЛСВ}} = 9214$
Гидрофильный стабилизатор в дисперсионной среде					
Эм1 с Тв $\varphi = 0.02$ об. д.	$1.48 \cdot 10^{-3}$	4.29	≤ 3.36	≥ 22.4	$\omega_3 = 4227$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 4161$
Эм2 с ГПЦ $\varphi = 0.02$ об. д.	$5.7 \cdot 10^{-4}$	1.96	–	15 ÷ 10	$\omega_3 = 1895$ $\omega_{\text{ЛСВ}} =$ 2787–1858
Липофильный стабилизатор в дисперсионной фазе					
Эм3 с Ам $\varphi = 0.01$ об. д.	$1.3 \cdot 10^{-3}$	1.13	≤ 0.12	≥ 49.3	$\omega_3 = 8999$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 9159$
Эм4 с Ам $\varphi = 0.02$ об. д.		2.20	≤ 0.12	≥ 49.3	$\omega_3 = 9068$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 9159$
Эм5 с Ам $\varphi = 0.03$ об. д.		3.16	≤ 0.12	≥ 49.3	$\omega_3 = 9000$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 9159$
Эм6 с Ф $C_{\text{Ф}} = 0.53$ мМ $\varphi = 0.01$ об. д.	$5.3 \cdot 10^{-4}$	1.09	≤ 0.05	≥ 49.5	$\omega_3 = 874$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 9192$
Эм7 с Ф $\varphi = 0.02$ об. д.		1.64	≤ 0.06	≥ 49.4	$\omega_3 = 888$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 9185$
Эм8 с Ф $\varphi = 0.03$ об. д.		3.31	≤ 0.05	≥ 49.5	$\omega_3 = 812$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 9192$
Эм9 с ГМО $C_{\text{ГМО}} = 9.7$ мМ $\varphi = 0.01$ об. д.	$9.7 \cdot 10^{-3}$	1.21	≤ 0.80	≥ 47.4	$\omega_3 = 2874$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 8807$
Эм10 с ГМО $\varphi = 0.02$ об. д.		2.25	≤ 0.86	≥ 47.2	$\omega_3 = 2845$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 8770$
Эм11 с ГМО $\varphi = 0.03$ об. д.		3.24	≤ 0.90	≥ 47.1	$\omega_3 = 2820$ $\omega_{\text{ЛСВ}} \geq 8750$

* C_0 – исходная концентрация стабилизатора;

** ω_3 – точность определения составляла $\pm 10\%$.

В данной работе определены концентрации ГМО [376], Ам и Ф (табл. 6) в насыщенных растворах в гептане, которые соответственно составляют $9.7 \cdot 10^{-3}$, $1.3 \cdot 10^{-3}$, $5.3 \cdot 10^{-4}$ М. Значения φ_2 , полученные на их основе, приведены в табл. 21. В этой же таблице даны значения $C_{\infty 2}$, рассчитанные из полученных нами значений растворимости ГМО, Ам и Ф в воде [233, 234]. Видно (табл. 21), что во всех случаях выполняется соотношение $\varphi_2 < C_{\infty 2}/C_{\infty 1}$. В соответствии с представлениями Кабальнова с соавторами [355, 357] это должно означать (см. выше), что скорость ОС не зависит от добавки 2-го компонента и определяется диффузионным массопереносом основного компонента, то есть уравнением 34, полученным для эмульсий с однокомпонентной дисперсной фазой.

Однако следует напомнить, что в работах [355, 357] речь шла о добавке в дисперсную фазу компонента, *не влияющего на межфазное натяжение*. Для оценки влияния липофильных добавок на свойства межфазной поверхности эмульсий было измерено межфазное натяжение растворов этих компонентов в гептане на границе с водой (рис. 49). На этом рисунке, наряду с экспериментальными данными, приведены результаты расчетов по уравнению Шишковского [109]:

$$\sigma = \sigma_0 - b \ln(1+AC), \quad (37)$$

где σ_0 – межфазное натяжение в отсутствие ПАВ, b и A – численные коэффициенты, рассчитанные значения которых представлены в табл. 22.

Таблица 21. Объемная доля липофильного стабилизатора в дисперсной фазе (φ_2) миниэмульсий гептан/вода, его растворимость в дисперсионной среде ($C_{\infty 2}$) и соотношение $C_{\infty 2}/C_{\infty 1}$

Стабилизатор	φ_2 , об. д.	$C_{\infty 2}$, об. д.	$C_{\infty 2}/C_{\infty 1}^*$
Амлодипин	$4.33 \cdot 10^{-4}$	$7.66 \cdot 10^{-5}$	15.36
Фелодипин	$1.59 \cdot 10^{-4}$	$6.62 \cdot 10^{-7}$	0.13
Глицерилмоноолеат	$3.57 \cdot 10^{-3}$	$1.77 \cdot 10^{-6}$	0.35

* $C_{\infty 1}$ – растворимость гептана в дисперсионной среде ($4.99 \cdot 10^{-6}$ об. д. [371]).

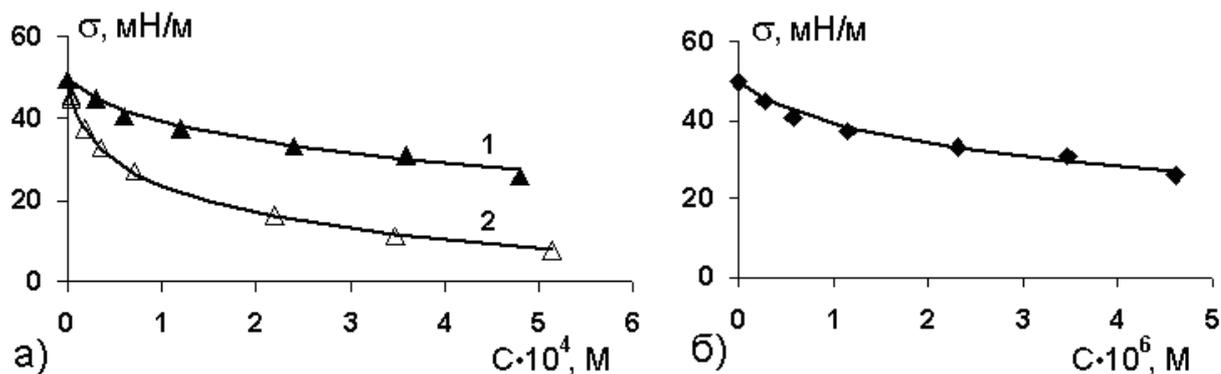


Рис. 49 (а, б). Изотермы межфазного натяжения растворов в гептане Φ (1а), ГМО (2а) и Ам (б) на границе с водой при 22°C .

Таблица 22. Значения констант уравнения Шишковского (A и b), предельной адсорбции (Γ_{\max}), площади (S_o), занимаемой молекулой НП АВ в предельно заполненном монослое, для растворов липофильных стабилизаторов в гептане на границе с водой

Параметр	Фелодипин	Глицерил моноолеат	Амлодипин
A, M^{-1}	$2.37 \cdot 10^4$	$1.26 \cdot 10^5$	$1.82 \cdot 10^6$
$b, \text{мН/м}$	8.71	10.0	10.1
$\Gamma_{\max} \cdot 10^6, \text{моль/м}^2$	3.5	4.0	4.1
$S_o, \text{нм}^2/\text{молекулу}$	0.47	0.41	0.40

Из рис. 49 можно заключить, что все исследованные липофильные компоненты снижают межфазное натяжение на границе гептан/вода и что изотермы $\sigma(C)$ хорошо описываются уравнением Шишковского. Известно [109], что это эмпирическое уравнение может быть получено также теоретически при совместном решении уравнений Гиббса и Лэнгмюра, что позволяет характеризовать коэффициент A , как константу адсорбционного равновесия, а коэффициент b считать пропорциональным предельной адсорбции (Γ_{\max}) поверхностно-активного компонента: $b = RT\Gamma_{\max}$. Рассчитанные нами значения Γ_{\max} и площади, приходящейся на молекулу адсорбата в предельно заполненном слое ($S_o = 1/(N_A\Gamma_{\max})$, где N_A – число Авогадро) приведены также в табл. 22.

Поверхностная активность, найденная из начальных линейных участков изотерм межфазного натяжения (рис. 49, область Генри) для Ф, ГМО и Ам соответственно равна $1.43 \cdot 10^5$, $1.09 \cdot 10^6$ и $2.01 \cdot 10^7$ мН/(м·М). Увеличение G исследованных липофильных компонентов при адсорбции из неполярной фазы на границу с водой коррелирует с возрастанием их растворимости в воде (табл. 20), что очевидно указывает на энергетический (энтальпийный) характер адсорбции, обусловленный гидратацией полярных групп [73]. Действительно, амлодипин, молекула которого содержит наибольшее число гетероатомов, является наиболее поверхностно-активным и наиболее растворимым в воде.

При совместном решении уравнений Шишковского и Лэнгмюра может быть получено уравнение состояния адсорбционного слоя, известное как уравнение Ван-Лаара [109, 73]:

$$\pi = -RT\Gamma_{\max} \ln(1 - \Theta) = (kT/S_0) \cdot \ln[S/(S - S_0)], \quad (38)$$

где $\pi = \sigma_0 - \sigma$ обозначает двухмерное давление, $\Theta = \Gamma/\Gamma_{\max}$ – степень заполнения адсорбционного слоя, $S = 1/(\Gamma \cdot N_A)$ – площадь, приходящаяся на молекулу в монослое, k – постоянная Больцмана.

Таким образом, Ф, ГМО и Ам можно отнести к разряду липофильных НП АВ, эффективно снижающих σ на границе с водой при адсорбции из неполярной фазы. Применимость уравнения Шишковского для исследованных систем означает возможность использования уравнения Ван-Лаара (уравнение 38) для оценки значений межфазного натяжения на границе капля/среда при анализе результатов дисперсионного анализа прямых эмульсий.

При различных значениях времени проведен дисперсионный анализ эмульсий, дисперсная фаза которых насыщена липофильным стабилизатором. Поскольку известно [333], что в предельно разбавленных эмульсиях ($\varphi < 0.05$) скорость изотермической перегонки не зависит от объемной доли масляной фазы, тогда как скорость коалесценции ей прямо пропорциональна, для выяснения механизма деградации варьировали величину φ (она составляла 0.01, 0.02, 0.03). Получены зависимости $W_i(d_i)$, $W_i(d_i/d_{cp})$, $W_i(t)$, $r_{cp}^3(t)$. На рис. 50–52 в качестве примера представлены данные для Эм9, стабилизированной ГМО (см. табл. 20). Для остальных систем функции, полученные на основе дисперсионного анализа, были аналогичными.

Все эмульсии имели субмикронные размеры частиц, инвариантные по времени нормализованные функции распределения, характеризовались линейным возрастанием куба среднего радиуса со временем и отсутствием влияния концентрации дисперсной фазы, что однозначно доказывает определяющее значение ОС. Из линейных зависимостей $r_{cp}^3(t)$ оценивались экспериментальные значения скорости деградации эмульсий. Из табл. 20 видно, что значения ω , увеличиваются для исследованных липофильных стабилизаторов в следующем порядке $\Phi < \text{ГМО} < \text{Ам}$.

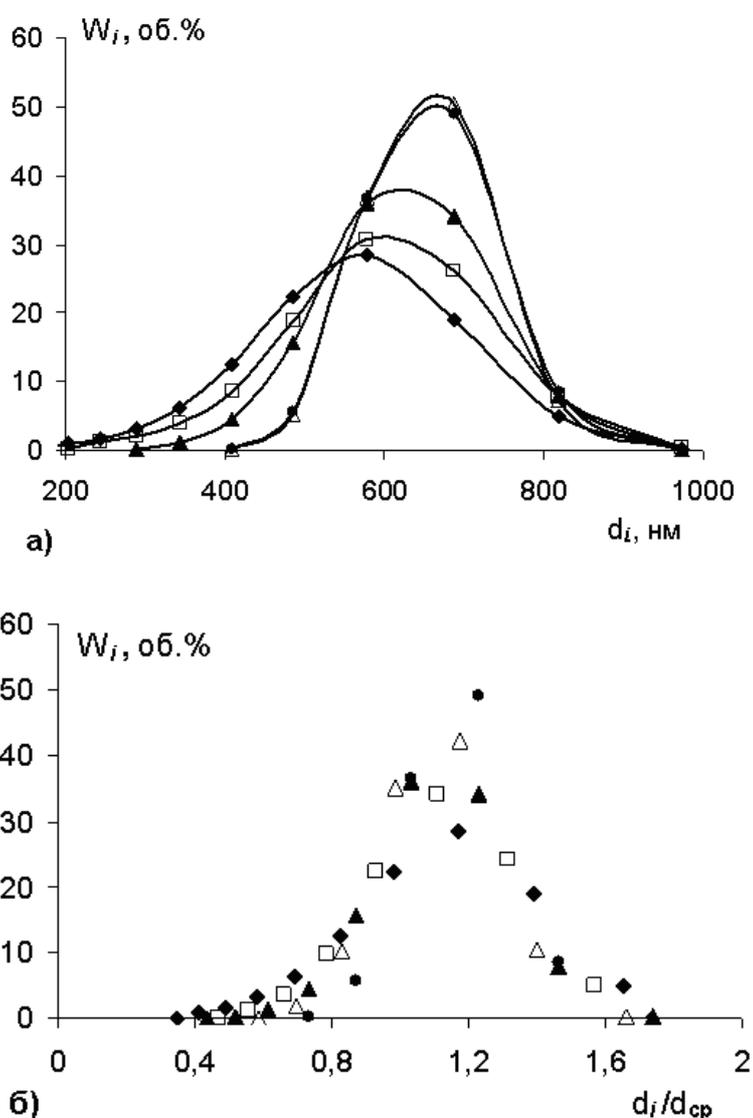


Рис. 50 (а, б). Обычная (а) и нормализованная (б) формы дифференциальных функций распределения частиц по размерам при различных значениях времени для эмульсии Эм9, стабилизированной ГМО ($C_{\text{ГМО}} = 9.7$ мМ): \blacklozenge – 240, \square – 720, \blacktriangle – 320, \triangle – 2760, \bullet – 3120 с.

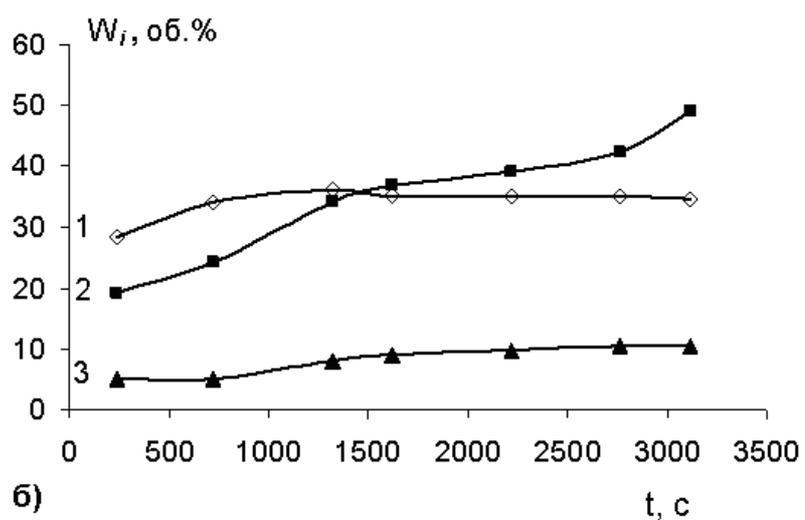
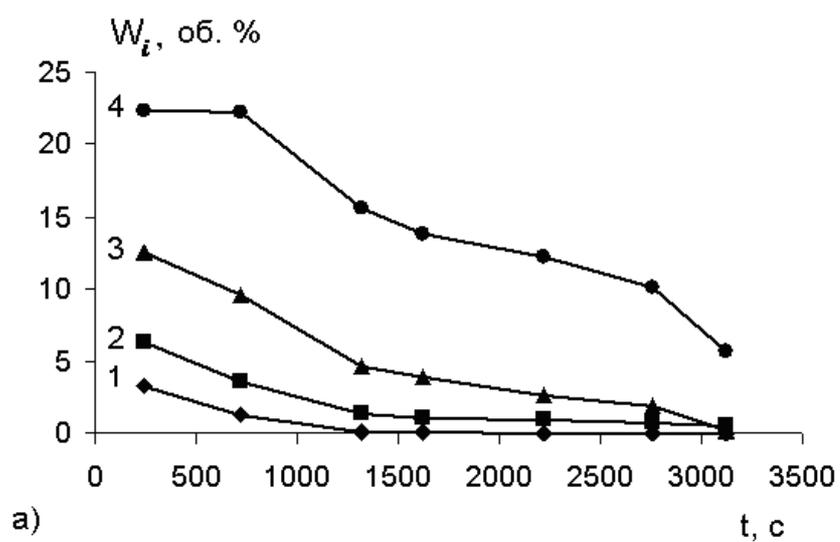


Рис. 51 (а, б). Изменение во времени количества частиц определенного размера (W_i) для миниэмульсии Эм9, стабилизированной ГМО ($C_{\text{ГМО}} = 9.7$ мМ): $d_i = 289$ (1а), 344 (2а), 409 (3а), 486 (4а), 578 (1б), 687 (2б), 818 нм (3б).

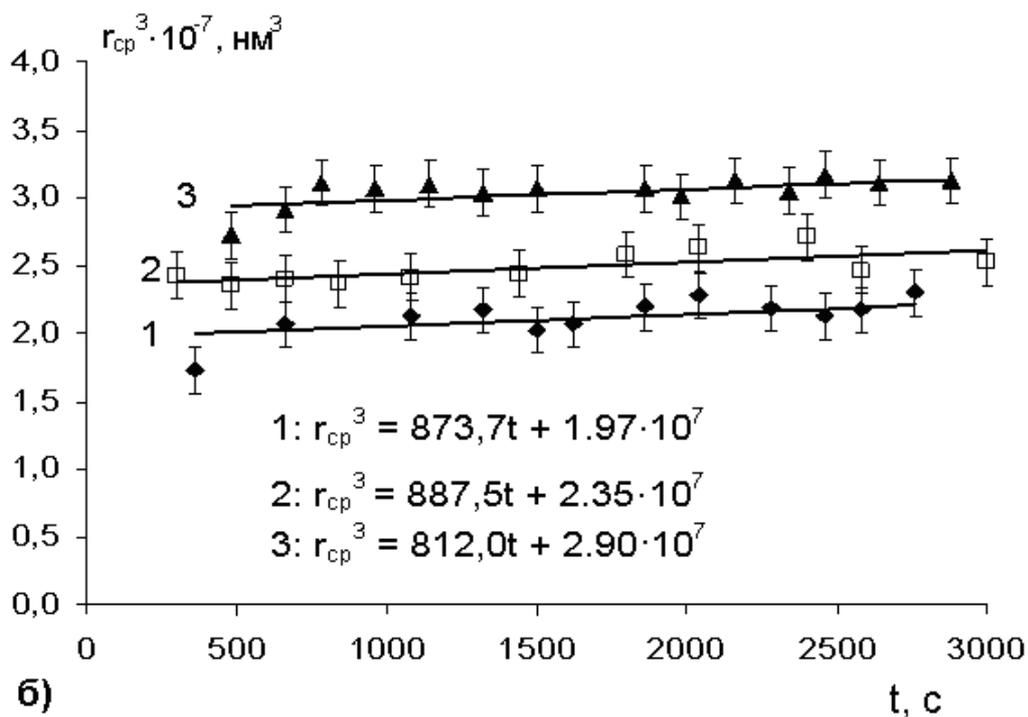
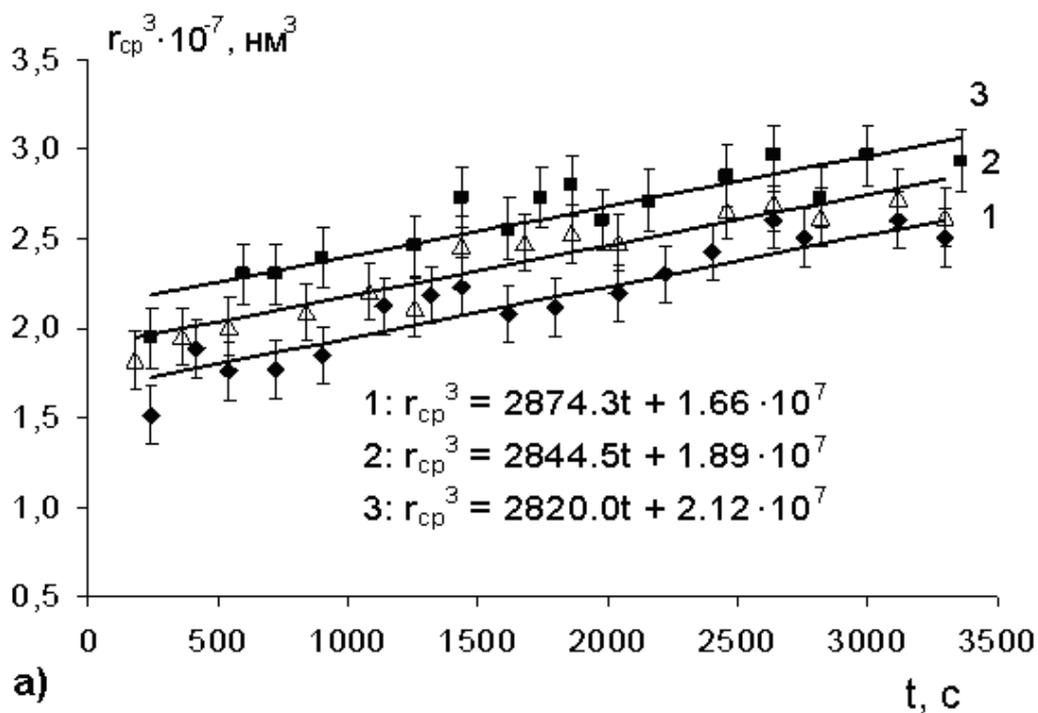


Рис. 52 (а, б). Зависимости куба среднего радиуса частиц от времени для стабилизированных ГМО (а) и Ф (б) миниэмульсий с различной объемной долей дисперсной фазы: $\phi = 0.01$ (1), 0.02 (2) и 0.03 об. д. (3). Исходные концентрации стабилизаторов в дисперсной фазе указаны в табл. 20.

По данным о распределении частиц по размерам рассчитывали площадь поверхности частиц (S_{Σ}) свежеприготовленных миниэмульсий Эм3–Эм11 (табл. 20). Содержание липофильных стабилизаторов в миниэмульсиях (Q , моль/10 см³ эмульсии) невелико, поскольку концентрация дисперсной фазы, в которую они включены, незначительна. В предположении, что стабилизатор практически полностью аккумулирован на межфазной поверхности капель, максимально возможная величина его адсорбции определяется отношением Q/S_{Σ} и достаточно мала во всех случаях (табл. 20). На основе уравнения Ван-Лаара (уравнение 38), а также полученных значений Γ и Γ_{\max} оценивали минимально возможные значения межфазного натяжения (табл. 20). Для миниэмульсий Эм3–Эм11 наблюдалось незначительное уменьшение σ по сравнению с σ_0 . Поэтому и минимально возможные скорости ОС, рассчитанные в рамках теории ЛСВ (уравнение 34), оказались достаточно большими, немногим меньше $\omega_{\text{ЛСВ}}$ для гипотетической миниэмульсии гептан/вода (табл. 20). Для миниэмульсий с Ам экспериментальная и рассчитанная скорости переконденсации хорошо согласуются (табл. 20), то есть процесс деградации хорошо описывается теорией ЛСВ. При этом Ам, который в отличие от Ф и ГМО, растворим в воде лучше, чем гептан, практически не оказывает ингибирующего действия.

Для миниэмульсий с ГМО и Ф экспериментальные значения скорости ОС соответственно в ≈ 3.1 и ≈ 10.5 раз меньше значений $\omega_{\text{ЛСВ}}$ (табл. 20). Фелодипин понижает скорость ОС наиболее эффективно (табл. 20). Таким образом, ингибирующее действие исследованных липофильных добавок возрастает с уменьшением их растворимости в водной фазе. Механизм действия, на наш взгляд, определяется следующими причинами. Вначале компонентный состав всех капель одинаков, то же самое можно сказать и о межфазном натяжении на их поверхности. В процессе ОС, т.е. при диффузионном массопереносе гептана от мелких капель к более крупным, происходит не только изменение состава дисперсной фазы вследствие плохой растворимости добавки в дисперсионной среде, но и изменение межфазного натяжения на поверхности капель различных размеров. Для мелких капель, в которых концентрируется поверхностно-активная добавка, σ и, соответственно, капиллярное давление уменьшаются, тогда как для более крупных капель, где концентрация добавки понижается, межфазное натяжение и

капиллярное давление возрастают. Это будет уменьшать разницу химических потенциалов, обусловленную изначальным различием P_c для капель с разными радиусами кривизны и являющуюся причиной ОС [377–379].

На основании изложенного выше становится очевидным, почему уравнение ЛСВ (уравнение 34), полученное в предположении неизменности межфазного натяжения, оказалось неприменимым для миниэмульсий с ГМО и Ф, для которых изменение компонентного состава капель разных размеров при переконденсации сопровождается соответствующими изменениями σ .

5.3. Получение стабильных миниэмульсий гептан/вода с иммобилизованным лекарством (фелодипин, амлодипин)

Для получения стабильных миниэмульсий гептан/вода с высоким содержанием дисперсной фазы, что важно для практического применения, необходимо предотвратить не только ОС, но и коалесценцию, оказывающую дестабилизирующее действие. Как описано выше, Тв, ГПЦ, ГМО и Ф являются ингибиторами ОС. Поскольку каждый из этих компонентов проявляет поверхностную активность при адсорбции из соответствующей фазы на границу раздела гептан/вода, можно предположить, что они способны формировать смешанные адсорбционные слои, предотвращающие коалесценцию капель эмульсии.

Для подтверждения этой гипотезы были выполнены измерения σ для многокомпонентных систем. Для водного раствора Тв (0.22 масс. %) на границе раздела с раствором ГМО (10 масс. %) в бинарной смеси гептан/этанол (92/8, по массе) межфазное натяжение равняется 0.9 мН/м. При добавлении ГПЦ (1 масс. %) в раствор Тв уже не удавалось измерить σ (метод висячей капли), поскольку раствор вытекал струей из капилляра. Это свидетельствует о низких значениях межфазного натяжения (десятые или сотые доли мН/м). Такие низкие значения σ , по-видимому, достигаются, благодаря формированию смешанного стабилизирующего слоя за счет адсорбции ГМО из масляной фазы, а также Тв и ГПЦ из водной. Дисперсные системы, характеризующиеся значениями межфазного натяжения порядка десятых или сотых долей мН/м, как известно [109],

оказываются устойчивыми относительно коагуляции, а, следовательно, и коалесценции.

На основании изложенного выше Тв, ГПЦ, ГМО и Ф были выбраны в качестве компонентов эмульгирующей композиции. Для повышения концентрации липофильных стабилизаторов в дисперсной фазе, в нее добавляли незначительное количество этанола (8 масс. %). При этом растворимость лекарства повышалась примерно в 100 раз. Эмульсии готовили весовым способом из заранее приготовленных растворов. Гидрофильные компоненты Тв (5 масс. %) и ГПЦ (10 масс. %) растворяли в воде, а липофильные ГМО (10 масс. %) и Ф (1.8 масс. %) – в гептане, содержащем этанол. Варьировали массовую долю дисперсной фазы, максимальное ее содержание составило 35 масс. % (что эквивалентно 0.43 об. д.).

В качестве примера на рис. 53 для эмульсии с $\varphi = 0.43$ об. д. представлены дифференциальные кривые распределения частиц по размерам при различных значениях времени. Эмульсия имеет субмикронные размеры (рис. 53) и, как показали наши расчеты, высокоразвитую межфазную поверхность ($S_{\Sigma} = 72 \text{ м}^2/10 \text{ см}^3$ эмульсии). Из этого рисунка видно, что функции $W_i(d_i)$ для различных значений времени совпадают друг с другом, что подтверждает стабильность данной миниэмульсии.

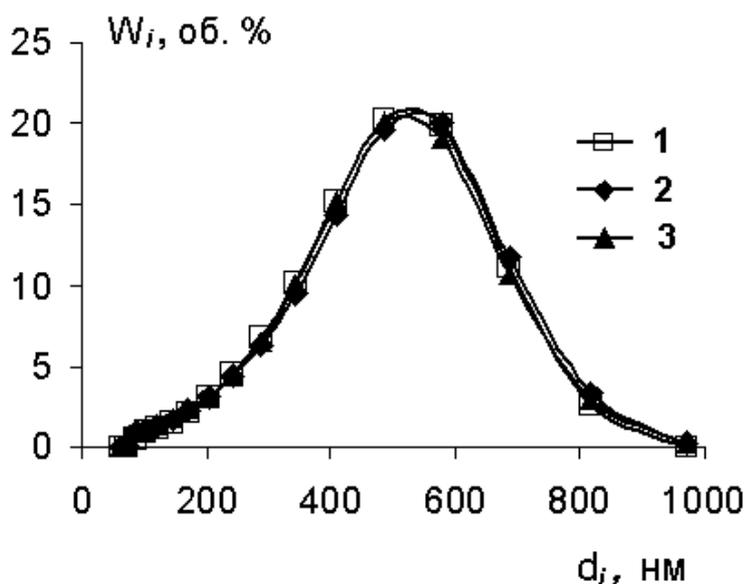


Рис. 53. Дифференциальные кривые распределения частиц по размерам при различных временах существования миниэмульсии гептан/вода с повышенным содержанием дисперсной фазы ($\varphi = 0.43$ об. д.), стабилизированной ГМО, Тв и ГПЦ: 1 – 360, 2 – 3600, 3 – 7200 с. Гептан содержал небольшую добавку этанола.

Таким образом, способность стабилизаторов уменьшать скорость изотермической перегонки в миниэмульсиях гептан/вода с низким содержанием дисперсной фазы возрастает в следующей последовательности: Тв < ГМО < ГПЦ < Ф [377–379].

Все изученные стабилизаторы проявляли поверхностную активность при адсорбции из соответствующих фаз на границе раздела гептан/вода. Механизмы ингибирования переконденсации для гидрофильных и липофильных стабилизаторов обоснованы с учетом результатов дисперсионного анализа и значений межфазного натяжения на границе капля/среда. Значения σ оценивали на основе тензиометрических измерений и данных о суммарной площади поверхности частиц дисперсной фазы в миниэмульсиях [377–379].

Гидрофильные стабилизаторы (Тв, ГПЦ) ингибируют ОС в соответствии с теорией Лифшица – Слезова – Вагнера за счет адсорбции из дисперсионной среды и уменьшения σ на границе капля/среда.

Введенный в масляную фазу липофильный Ам, лучше гептана растворимый в воде, практически не влияет на скорость ОС, при этом справедлива теория ЛСВ (см. табл. 20).

Липофильные ГМО и Ф с меньшей, чем у гептана растворимостью в дисперсионной среде, добавленные в дисперсную фазу миниэмульсии, уменьшают скорость ОС тем эффективнее, чем ниже их растворимость в воде. Ингибирующее действие этих добавок напрямую связано с их поверхностной активностью и низкой растворимостью в дисперсионной среде. В процессе ОС эти свойства обуславливают различный композиционный состав и, соответственно, различные значения межфазного натяжения для капель различных размеров. Капли меньших размеров, обогащенные поверхностно-активной добавкой, характеризуются более низкими значениями σ и, наоборот, крупные капли с пониженным содержанием добавки имеют повышенные значения межфазного натяжения. Это уменьшает капиллярные эффекты, являющиеся причиной ОС, и тормозит деградацию миниэмульсий. Теория ЛСВ, предполагающая независимость σ от размеров частиц, в данном случае неприменима. Следует отметить, что эффективность лекарства и усилителя проницаемости кожи в качестве ингибиторов ОС показана впервые. Предложенный в работе механизм их ингибирующего действия позволит

прогнозировать перспективность целевых липофильных компонентов для получения стабильных относительно ОС миниэмульсий исходя из их растворимости и поверхностной активности [377–379].

Предложенные механизмы торможения ОС позволили получить стабильные концентрированные прямые миниэмульсии гептан/вода, дисперсная фаза которых содержала небольшую добавку этилового спирта и была насыщена УП кожи (ГМО), а дисперсионная среда включала Тв и ГПЦ (рис. 53). Помимо синергетического ингибирующего действия ГМО, Тв и ГПЦ на ОС, к факторам агрегативной устойчивости таких миниэмульсий можно отнести формирование смешанного адсорбционного слоя на межфазных границах миниэмульсии, что по данным тензиометрии сопровождается снижением σ до десятых долей мН/м и обеспечивает защиту от коагуляции (а значит и коалесценции). Загущающее действие ГПЦ также повышает стабильность миниэмульсий.

Инкорпорирование Лк (Ф, Ам) в дисперсную фазу или лизоцима в дисперсионную среду практически не влияло на дисперсность и стабильность разработанных миниэмульсий, что свидетельствует об их универсальности по отношению к целевым компонентам с различным гидрофильно-липофильным балансом.

Разработанные миниэмульсии без целевых компонентов (Лк или Лз) и в их присутствии использовались как премиксы двойных эмульсий $M_1/V/M_2$ (первая стадия процесса).

Глава 6. РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РАСТВОРОВ ПОЛИМЕРНЫХ АДГЕЗИВОВ В НЕПОЛЯРНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ

Оценка целесообразности применения растворов липофильных АЧД в неполярных растворителях в качестве дисперсионной среды при разработке стабильных обычных В/М и двойных М/В/М эмульсий медицинского назначения предполагает изучение способности полимера снижать избыток межфазной энергии, а также реологических свойств этих растворов.

Как отмечалось выше (глава 2) в работе использовано оригинальное сочетание полиизобутиленов различной молекулярной массы и полибутена, обеспечивающее отличную адгезию к коже, обозначенное как ПИБ, а также запатентованный адгезив Duro-Tak 87-900А (ДТ) [208]. Информации относительно поверхностной активности этих АЧД на межфазных границах, а также о реологическом поведении их растворов нами не обнаружено.

В качестве растворителей ПИБ и ДТ выбраны соответственно гептан и этилацетат. Растворы полимеров далее будут обозначены аббревиатурой P_XY (где X отражает тип полимера, а Y – концентрацию раствора полимера, округленную до единиц масс. %). Например, 37.8 масс. % раствор полиизобутилена в гептане будет обозначаться как $P_{\text{ПИБ}38}$.

На основе тензиометрических измерений методом висящей капли нами показано, что ПИБ и ДТ не снижают межфазного натяжения на границе вода/раствор АЧД в соответствующем растворителе. Поэтому ключевым фактором стабилизации эмульсий с липофильной дисперсионной средой может послужить ее загущение. Поскольку полимерные адгезивы не применялись ранее для решения подобных задач, возникла необходимость исследования реологических свойств их растворов.

Комплексное реологическое исследование проведено с применением трех режимов испытаний:

- стационарное течение с контролируемой скоростью деформации,
- ползучесть (при постоянном напряжении сдвига, τ_C) и восстановление (при снятии нагрузки, $\tau_C = 0$),

- воздействие осциллирующего напряжения сдвига ($\tau = \tau_0 \sin(\omega t)$) с угловой частотой ω и постоянной амплитудой τ_0).

Испытания в двух последних режимах должны выполняться в области линейной вязкоупругости. На основе предварительных опытов для исследуемых растворов полимеров были выбраны оптимальные значения постоянного напряжения сдвига τ_c и амплитуды колебаний напряжения τ_0 .

Известно [163], что в области линейной вязкоупругости податливость, которая определяется отношением относительной деформации к приложенному напряжению сдвига $J_{\tau_c} = \gamma/\tau_c$, не зависит от величины последнего. На рис. 54 (на примере Р_{ПИБ}38) представлена типичная кинетика податливости для различных значений приложенного напряжения сдвига. Из данного рисунка видно, что при значениях $\tau_c = 0.5, 1.0$ и 5.0 Па кривые $J_{\tau_c}(t)$ совпадают в пределах ошибок опыта, что соответствует области линейной вязкоупругости. Для других растворов были получены аналогичные результаты, поэтому исследования в режиме ползучести во всех случаях проводились при $\tau_c = 1$ Па.

При динамических испытаниях на основе зависимостей модулей накопления и потерь от амплитуды колебаний напряжения сдвига, полученных при постоянной частоте ($f = \omega/2\pi = 1$ Гц), определяли оптимальные значения этой амплитуды, соответствующие неизменным значениям модулей (область линейной вязкоупругости [163], см. рис. 55). Для всех исследованных растворов значения $\tau_0 \leq 1$, соответствовали области линейной вязкоупругости. Далее использовали значения τ_0 , равные 0.5 или 1.0 Па.

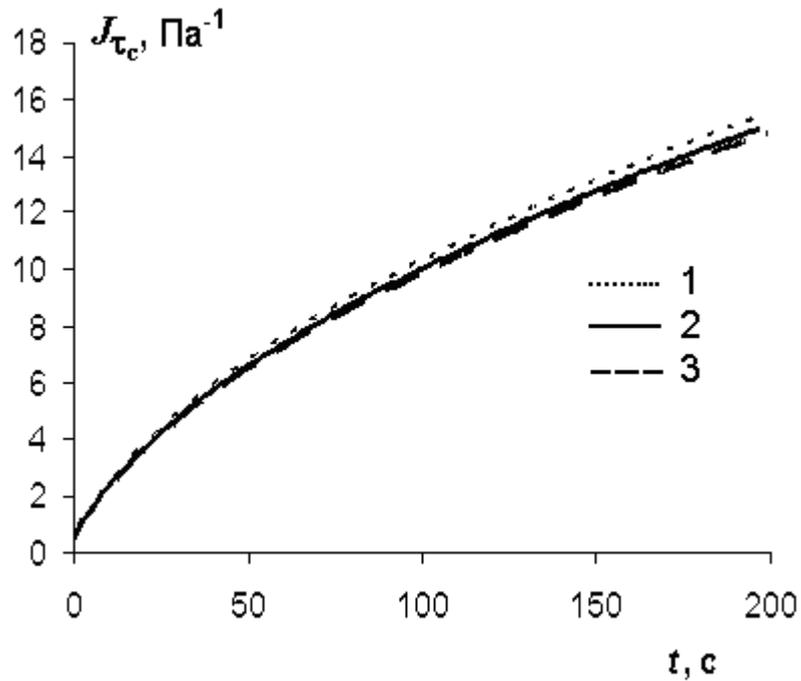


Рис. 54. Кинетика податливости $J_{\tau_c}(t)$ при различных значениях приложенного постоянного напряжения сдвига (τ_c , режим ползучести) для раствора ПИБ в гептане (Р_{ПИБ38}): $\tau_c = 0.5$ Па (1), 1.0 (2) и 5.0 (3).

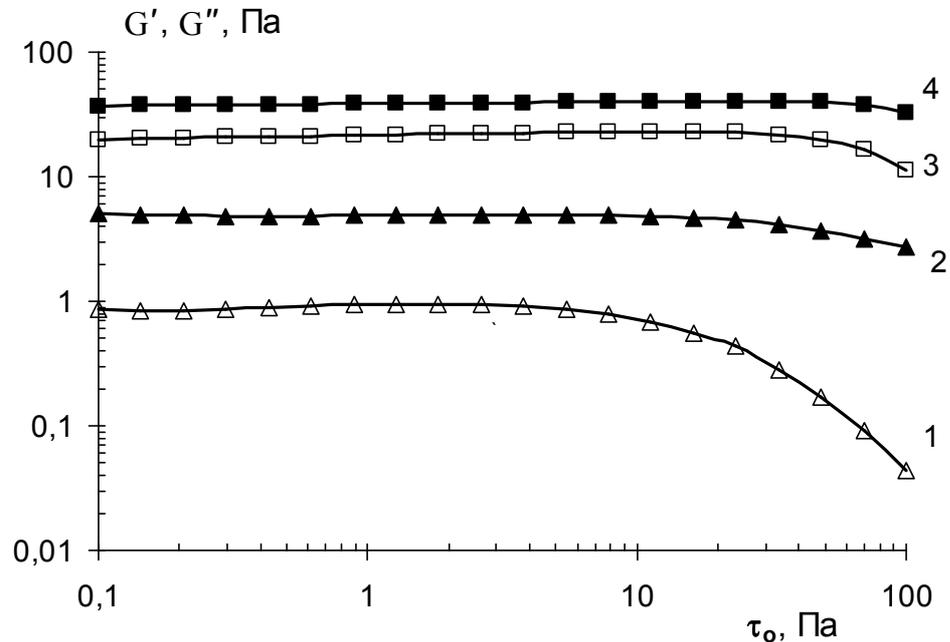


Рис. 55. Зависимости модулей накопления (G') и потерь (G'') от амплитуды напряжения сдвига (τ_0) при постоянной частоте колебаний ($f = 1$ Гц) для растворов Р_{ПИБ34} (1 – G' , 2 – G'') и Р_{ПИБ47} (3 – G' , 4 – G'').

6.1. Реологические свойства растворов полиизобутилена в гептане

Концентрации исследованных растворов ПИБ в гептане приведены в табл. 23. Известно [380], что растворы, в которых объемная доля полимера $\varphi > 0.3$, классифицируют как высококонцентрированные. К таким растворам можно отнести $R_{\text{ПИБ}38}$ и $R_{\text{ПИБ}47}$, тогда как $R_{\text{ПИБ}20}$ и $R_{\text{ПИБ}34}$ (см. табл. 23) являются слабоконцентрированными.

Таблица 23. Массовые концентрации (m) и объемные доли (φ) ПИБ в растворах в гептане

Раствор ПИБ	m , масс. %	φ , об. д.
$R_{\text{ПИБ}20}$	20.2	0.158
$R_{\text{ПИБ}34}$	33.5	0.272
$R_{\text{ПИБ}38}$	37.8	0.311
$R_{\text{ПИБ}47}$	46.7	0.394

Результаты реологических испытаний растворов ПИБ представлены на рис. 56–59 и 61, 62. Кривые течения и вязкости, полученные при контролируемом изменении скорости деформации ($d\gamma/dt$), представлены, соответственно, на рис. 56 и 57. Раствор $R_{\text{ПИБ}20}$ характеризуется линейной зависимостью напряжения сдвига τ от $d\gamma/dt$ и постоянным значением η , превышающим вязкость растворителя в ~ 120 раз (для гептана $\eta = 0.41$ мПа·с при 20°C [381]). При увеличении концентрации полимера реологическое поведение растворов изменяется от ньютоновского (для $R_{\text{ПИБ}20}$), до аномального (для $R_{\text{ПИБ}34}$, $R_{\text{ПИБ}38}$, $R_{\text{ПИБ}47}$), когда зависимости напряжения сдвига и вязкости от скорости деформации являются нелинейными функциями (рис. 56 и 57). Аномалию вязкости при этом принято связывать с наличием пространственной флуктуационной сетки зацеплений, образованной макромолекулами (или их агрегатами). При деформировании в процессе стационарного течения происходит два процесса: разрушение флуктуационной сетки и агрегатов, а также разворачивание макромолекул по потоку [163].

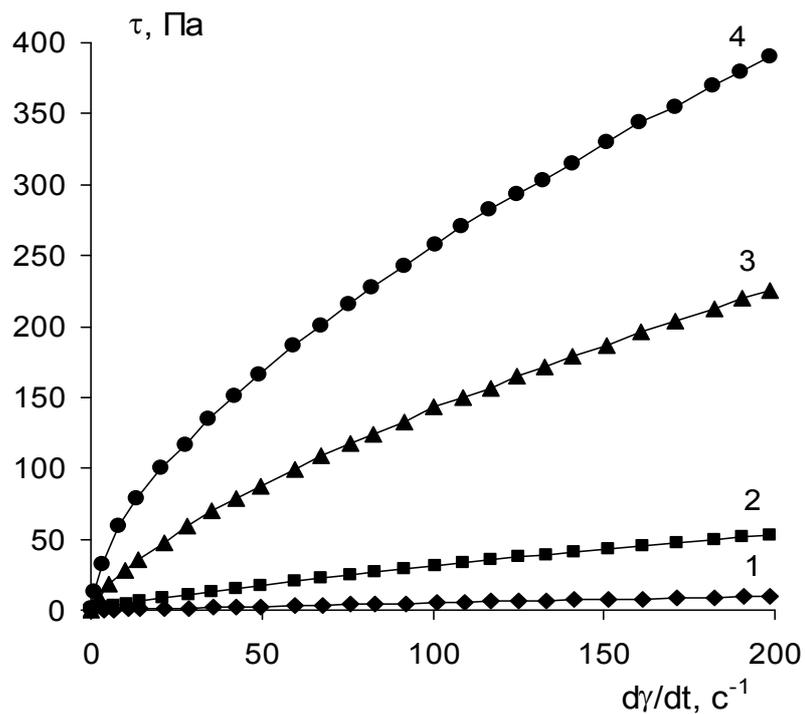


Рис. 56. Кривые течения растворов ПИБ в гептане: 1 – Р_{ПИБ}20, 2 – Р_{ПИБ}34, 3 – Р_{ПИБ}38, 4 – Р_{ПИБ}47.

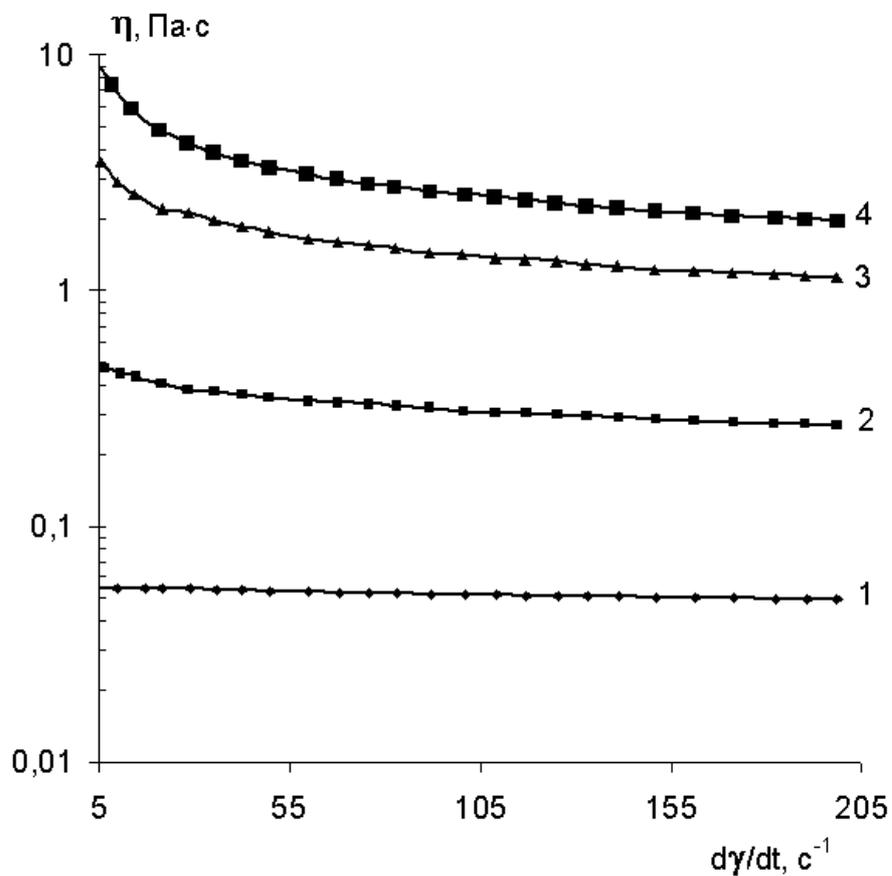


Рис. 57. Зависимости эффективной вязкости от скорости деформации для растворов ПИБ в гептане: 1 – Р_{ПИБ}20, 2 – Р_{ПИБ}34, 3 – Р_{ПИБ}38, 4 – Р_{ПИБ}47.

На рис. 58 и 59 для растворов ПИБ, проявляющих аномалию вязкости, представлены кинетические деформационные кривые для стадий ползучести и восстановления. Вид этих кривых для высококонцентрированных растворов ПИБ (рис. 58) свидетельствует о наличии мгновенной упругой деформации γ_0 , последующего постепенного ее развития с уменьшающейся скоростью, и стационарного течения с постоянной минимальной скоростью $(d\gamma/dt)_{\min}$. Деформационное поведение, сочетающее вклады упругости, высокоэластичности («запаздывающая» упругая деформация) и вязкости, хорошо описывается моделью Бюргерса [163]. Эта реологическая модель (см. рис. 60а) представляет собой последовательное соединение моделей Максвелла (с последовательным соединением упругого G_0 и вязкого η_0 элементов) и Кельвина–Фойхта (с параллельным соединением упругого G_1 и вязкого η_1 элементов). В соответствии с моделью Бюргерса кинетика деформации при приложении постоянного напряжения сдвига ($\tau_C = \text{const}$) на стадии ползучести описывается уравнением [163]:

$$\gamma = \tau_C/G_0 + (\tau_C/G_1)(1 - \exp(-t/\lambda_1)) + (\tau_C/\eta_0)t, \quad (39)$$

где $G_0 = \tau_C/\gamma_0$ и $G_1 = \tau_C/\gamma_e = \tau_C/(\gamma_m - \gamma_0)$ – соответственно модули упругости и эластичности; γ_m и γ_e – обратимая и эластическая деформации, соответственно; $\eta_0 = \tau_C/(d\gamma/dt)_{\min}$ и $\eta_1 = \tau_C/(d\gamma/dt)_e = \tau_C/[(d\gamma/dt)_{\max} - (d\gamma/dt)_{\min}]$ – вязкости соответствующих демпферов (на рис. 6а); $(d\gamma/dt)_e$ и $(d\gamma/dt)_{\min}$ – соответственно скорости эластической деформации и вязкого течения; $(d\gamma/dt)_{\max}$ – максимальная скорость деформации; $\lambda_1 = \eta_1/G_1$ – время релаксации (запаздывания деформации).

Суммарную упругую и эластическую деформацию γ_m находили (см. рис. 58), как отрезок, отсекаемый на оси ординат при экстраполяции конечного линейного участка на кривой ползучести, соответствующего стационарному течению. При этом величина γ_m численно равна коэффициенту A в линейном уравнении $\gamma = A + Bt$, описывающем этот участок, а скорость стационарного течения $(d\gamma/dt)_{\min}$ – коэффициенту B . Значения эластической деформации рассчитывали по разности: $\gamma_e = \gamma_m - \gamma_0$. Максимальная скорость деформации $(d\gamma/dt)_{\max}$, которая является суммой скоростей эластической деформации $(d\gamma/dt)_e$ и вязкого течения $(d\gamma/dt)_{\min}$, численно равна коэффициенту B линейного уравнения, описывающего первый линейный

участок на кривой ползучести (рис. 58). Скорость эластической деформации рассчитывали по разности: $(d\gamma/dt)_e = (d\gamma/dt)_{\max} - (d\gamma/dt)_{\min}$. Коэффициент A уравнения для первого линейного участка кривой ползучести численно равен γ_0 . Численные коэффициенты линейных уравнений находили с помощью программы Microsoft Excel.

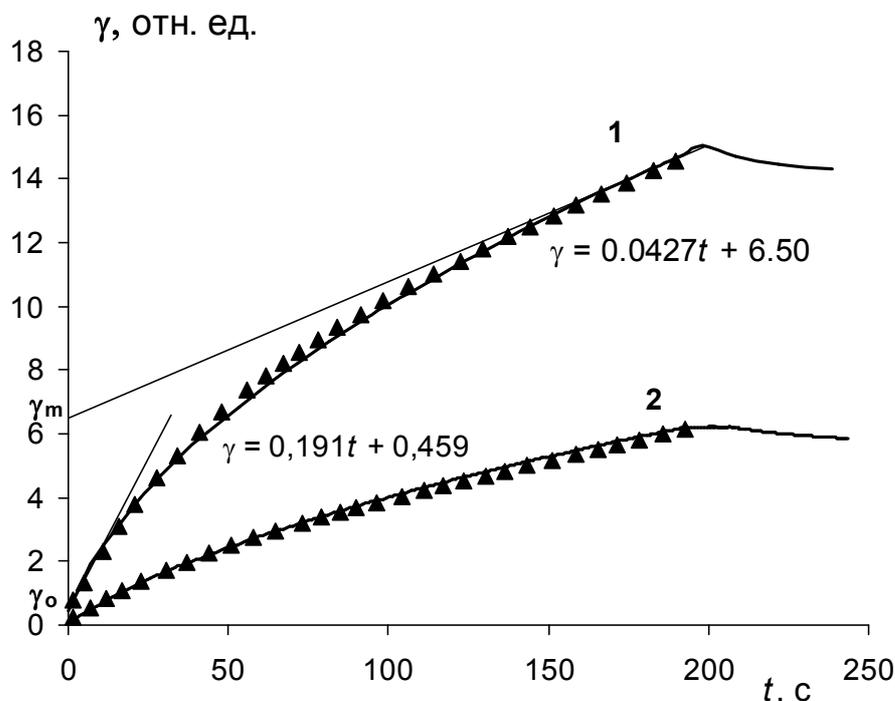


Рис. 58. Зависимости деформации от времени для стадий ползучести ($\tau_c = 1$ Па) и восстановления ($t > 200$, $\tau_c = 0$) для высококонцентрированных растворов ПИБ: 1 – Р_{ПИБ38}, 2 – Р_{ПИБ47}. Сплошные линии – эксперимент, символы – расчет по модели Бюргера.

Параметры модели Бюргера для Р_{ПИБ38} и Р_{ПИБ47} представлены в табл. 24. На основе этих параметров рассчитаны зависимости $\gamma(t)$, которые наряду с экспериментальными данными приведены на рис. 58. Видно, что экспериментальные и расчетные результаты хорошо согласуются, что подтверждает применимость модели Бюргера для высококонцентрированных растворов ПИБ.

Для раствора Р_{ПИБ34} кинетика деформации на стадиях ползучести и восстановления имеет другой характер (рис. 59). В данном случае отсутствует мгновенная упругая деформация и наблюдается достаточно протяженный линейный участок, исходящий из начала координат и описываемый уравнением $\gamma =$

$B_0 t$, (где B_0 – численный коэффициент). Характер деформационной кривой $\gamma(t)$ (рис. 59) позволяет предположить применимость реологической модели, состоящей из последовательно соединенных моделей Ньютона (вязкий элемент η_0) и Кельвина–Фойхта (параллельное соединение упругого G_1 и η_1 элементов, рис. 60б):

$$\gamma = (\tau_c/G_1)(1 - \exp(-t/\lambda_1)) + (\tau_c/\eta_0)t. \quad (40)$$

По сути, это уравнение отличается от уравнения Бюргерса (уравнение 39) лишь отсутствием члена, соответствующего мгновенной упругой деформации. При этом максимальная скорость деформации $(d\gamma/dt)_{\max}$, равная коэффициенту B_0 , является суммой скоростей эластической деформации $(d\gamma/dt)_e$ и вязкого течения $(d\gamma/dt)_{\min}$. Физический смысл параметров G_1 , η_0 , η_1 и λ_1 обоих уравнений и способы их расчета одинаковы (см. выше). Реологические параметры для раствора Р_{ПИБ}34 приведены в табл. 24, а рассчитанная на их основе деформационная кривая – на рис. 59. Этот рисунок демонстрирует удовлетворительное согласование с экспериментальными данными, что подтверждает применимость рассматриваемой реологической модели (рис. 60б) для Р_{ПИБ}34.

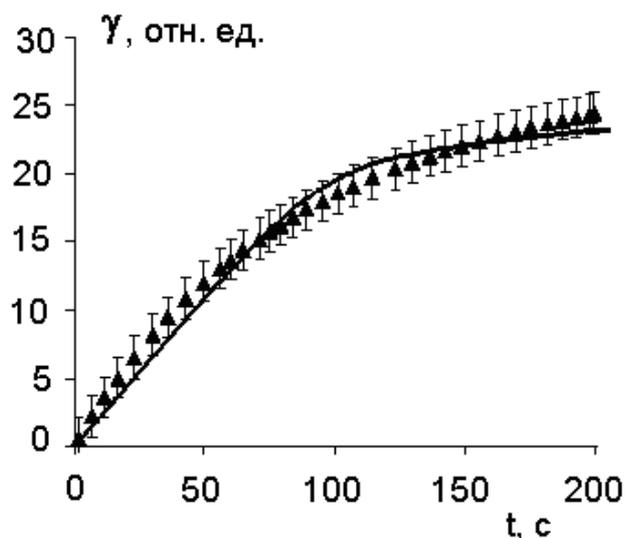


Рис. 59. Развитие деформации во времени на стадии ползучести ($\tau_c = 1$ Па) для раствора Р_{ПИБ}34. Сплошные линии – эксперимент, символы – расчет по модели, представленной на рис. 60б и описываемой уравнением 40.

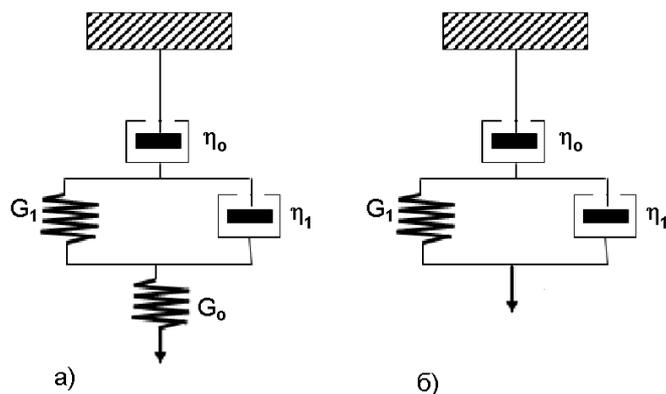


Рис. 60 (а, б). Реологические модели, описывающие вязкоупругое поведение: Бюргерса (а) и Ньютона + Кельвина-Фойхта (б).

Таблица 24. Значения параметров реологических моделей для растворов ПИБ, проявляющих аномалию вязкости

Модель	Бюргерса (Максвелл + Кельвин)				
Параметр	G_0 , Па	G_1 , Па	η_0 , Па·с	η_1 , Па·с	λ , с
Р _{ПИБ38}	2.2 ± 0.1	0.165 ± 0.01	23.4 ± 0.2	6.75 ± 0.1	41 ± 1
Р _{ПИБ47}	7.5 ± 0.1	0.59 ± 0.01	44.4 ± 0.3	23.2 ± 0.2	39 ± 1
Модель	Ньютон + Кельвин				
Параметр	G_1 , Па	η_0 , Па·с	η_1 , Па·с	λ , с	
Р _{ПИБ34}	0.048 ± 0.005	44.2 ± 0.3	3.25 ± 0.1	68 ± 1	

Из табл. 24 видно, что с ростом концентрации полимера в растворе реологическая модель усложняется, при этом значения всех ее параметров, за исключением λ_1 , возрастают. Полученные данные свидетельствуют о том, что высококонцентрированные растворы ПИБ обладают вязкоупругими эластическими свойствами (при превалировании вязких свойств над упругими). Это обусловлено наличием сетки зацеплений между молекулами полимера. Уменьшение времени релаксации λ_1 по мере роста концентрации полимера подчеркивает некоторое возрастание вклада упругости при сохранении превосходства вязких свойств.

Результаты динамических испытаний для растворов полимера Р_{ПИБ34}, Р_{ПИБ38} и Р_{ПИБ47} представлены на рис. 61 и 62. Для раствора Р_{ПИБ20}, который является ньютоновской жидкостью, подобных испытаний не проводили.

Из рис. 61 видно, что с ростом концентрации полимера в растворе значения обоих модулей возрастают, причем модуль потерь во всех случаях превышает модуль накопления ($G'' > G'$), что говорит о том, что исследованные растворы являются вязкоупругими жидкостями. Значения тангенса потерь больше 1 во всем исследованном интервале ω и убывают при увеличении $C_{\text{ПИБ}}$ (рис. 62), это свидетельствует о том, что вклад упругости увеличивается с ростом концентрации полимера при сохранении доминирующей роли вязкостной составляющей.

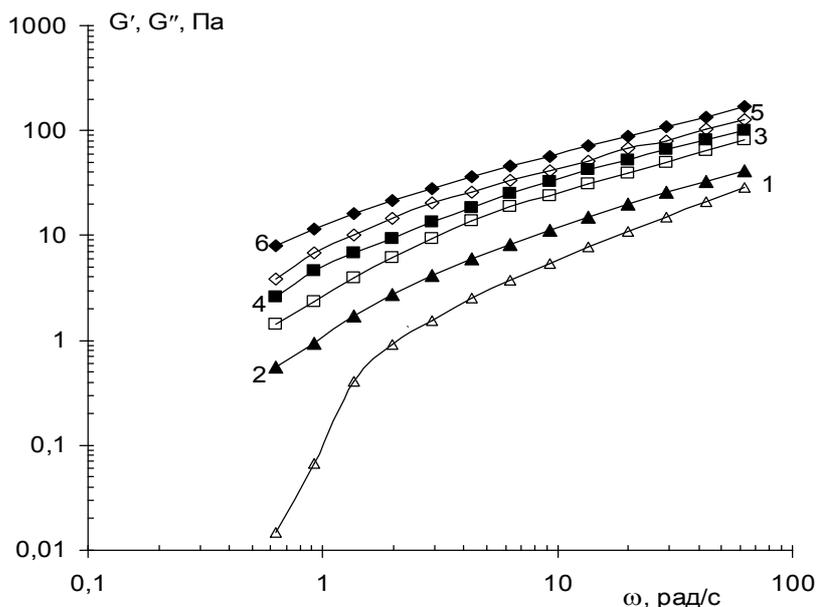


Рис. 61. Зависимости модулей накопления (G') и потерь (G'') от угловой частоты колебаний для растворов $P_{\text{ПИБ}34}$ (1 – G' , 2 – G''), $P_{\text{ПИБ}38}$ (3 – G' , 4 – G'') и $P_{\text{ПИБ}47}$ (5 – G' , 6 – G'').

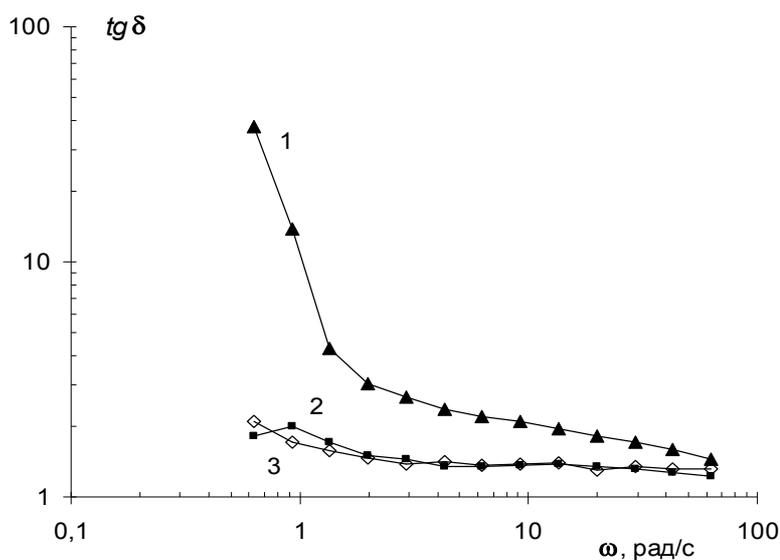


Рис. 62. Зависимости тангенса потерь от угловой частоты для растворов ПИБ в гептане: 1 – $P_{\text{ПИБ}34}$, 2 – $P_{\text{ПИБ}38}$ и 3 – $P_{\text{ПИБ}47}$.

6.2. Реологические свойства растворов полиакрилата в этилацетате

При исследовании реологических свойств растворов акрилового полимера в этилацетате использованы те же режимы и условия, что и для растворов полиизобутилена в гептане.

На рис. 63 и 64 приведены соответственно кривые течения и вязкости для растворов ДТ, полученные в режиме стационарного течения с контролируемой скоростью деформации. Из этих рисунков видно, что вязкость $P_{\text{ДТ}20}$ практически не зависит от скорости деформации ($d\gamma/dt$), т.е. данный раствор является ньютоновской жидкостью, вязкость которой примерно в 230 раз превышает вязкость этилацетата ($\eta_{P_{\text{ДТ}20}} = 105$, $\eta_{\text{ЭтАц}} = 0.458$ мПа·с [381]). Для более концентрированных растворов $P_{\text{ДТ}35}$, $P_{\text{ДТ}45}$ и $P_{\text{ДТ}60}$ наблюдается (рис. 64) заметное уменьшение эффективной вязкости с ростом $d\gamma/dt$ (неньютоновское поведение). При этом с увеличением концентрации полимера в растворе приводит к заметному возрастанию η (рис. 64).

По нашим расчетам, для растворов $P_{\text{ДТ}35}$, $P_{\text{ДТ}45}$ и $P_{\text{ДТ}60}$ объемная доля полимера превышает 0.3, что позволяет классифицировать их как высококонцентрированные [380]. Полученные нами для этих растворов зависимости эффективной вязкости от скорости деформации (рис. 64) оказались типичными для высококонцентрированных растворов полимеров, для которых аномалию вязкости принято связывать с наличием пространственной флуктуационной сетки зацеплений, образованной макромолекулами (или их агрегатами) [380].

На рис. 65 приведена кинетика относительной деформации $\gamma(t)$ на стадиях ползучести и восстановления для высококонцентрированных растворов ДТ. Вид деформационных кривых (рис. 65) свидетельствует о наличии мгновенной упругой деформации γ_0 , последующего постепенного развития деформации с уменьшающейся скоростью, и стационарного течения с постоянной минимальной скоростью $(d\gamma/dt)_{\text{min}}$. Деформационное поведение, сочетающее вклады упругости, эластичности («запаздывающая» упругая деформация) и вязкости, как правило, хорошо описывается моделью Бюргерса (уравнение 39).

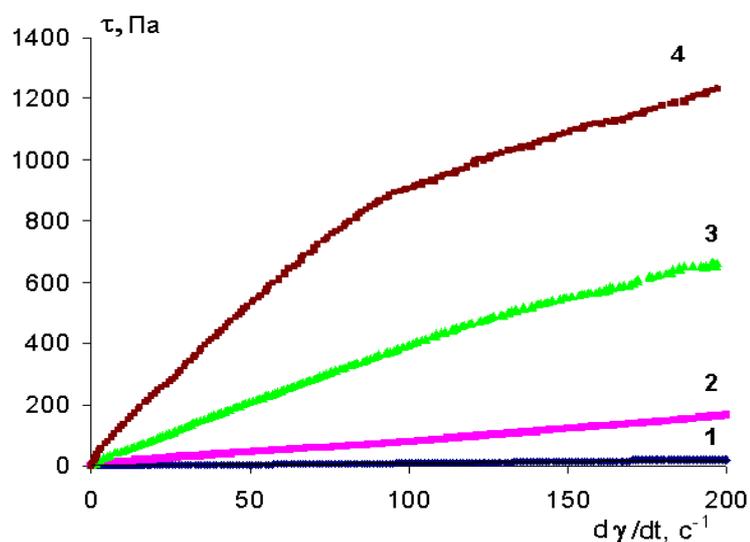


Рис. 63. Кривые течения растворов ДТ различных концентраций в этилацетате: 1 – Р_{ДТ}20, 2 – Р_{ДТ}35, 3 – Р_{ДТ}45 и 4 – Р_{ДТ}60.

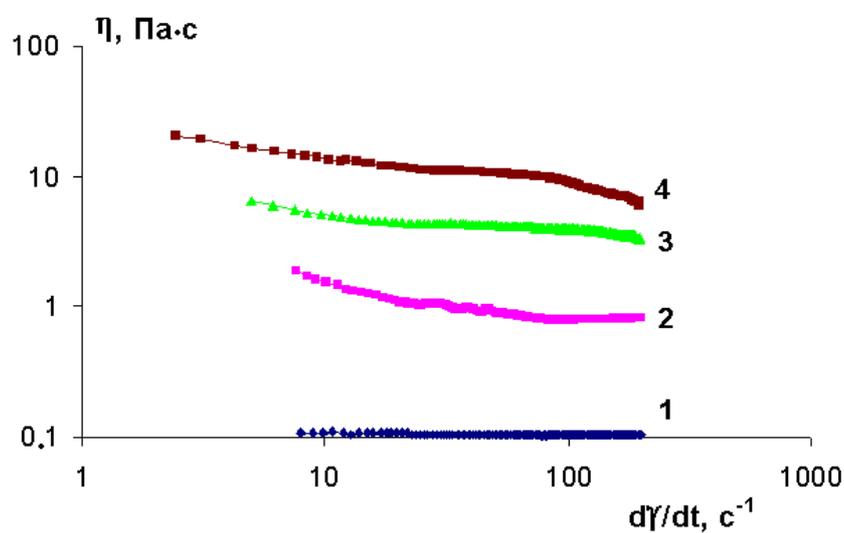


Рис. 64. Зависимости эффективной вязкости растворов ДТ различных концентраций в этилацетате от скорости деформации: 1 – Р_{ДТ}20, 2 – Р_{ДТ}35, 3 – Р_{ДТ}45 и 4 – Р_{ДТ}60.

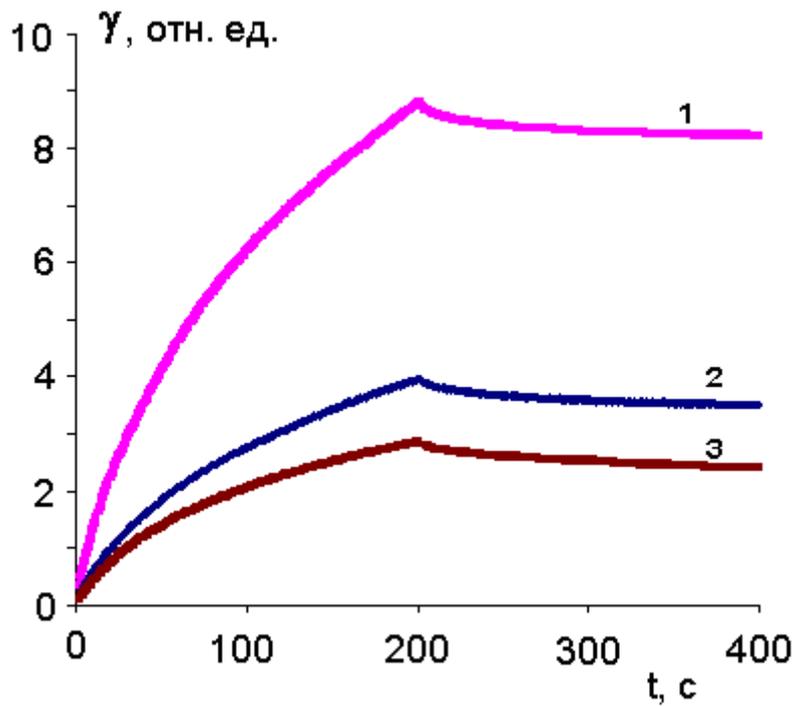


Рис. 65. Зависимости деформации от времени на стадиях ползучести и восстановления для растворов ДТ в этилацетате: 1 – Р_{ДТ}35, 2 – Р_{ДТ}45, 3 – Р_{ДТ}60.

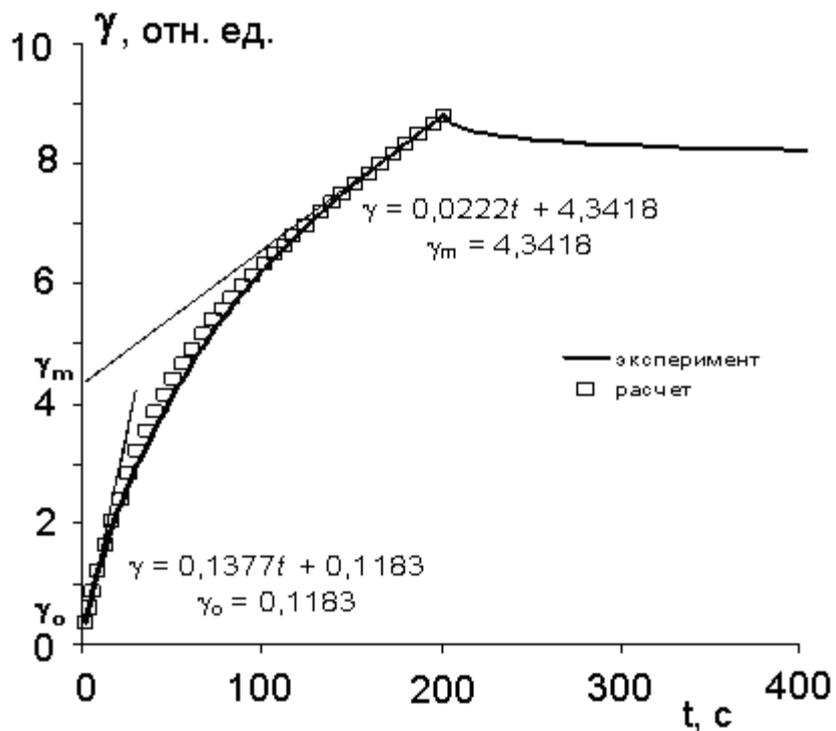


Рис. 66. Развитие деформации во времени на стадиях ползучести и восстановления для раствора Р_{ДТ}35. Сплошные линии – эксперимент, символы – расчет по уравнению Бюргера (уравнение 39).

Способ расчета параметров модели Бюргера подробно описан выше (глава 6). На рис. 66, на котором в качестве типичного примера приведена зависимость $\gamma(t)$ для Р_{ДТ}35, видно, что экспериментальные данные хорошо согласуются с результатами расчетов по данной модели. В табл. 25 приведены значения параметров модели Бюргера для растворов ДТ, из которой видно, что значения G_0 , G_1 , η_0 , η_1 и λ_1 возрастают при увеличении концентрации полимера. Высококонцентрированные растворы ДТ проявляли высокую степень эластичности (табл. 25), которая определялась из соотношения [163, 382]: $\alpha = \gamma_e/\gamma_m = (\gamma_m - \gamma_0)/\gamma_m$.

Таблица 25. Параметры модели Бюргера для растворов ДТ в этилацетате

Раствор	G_0 , Па	G_1 , Па	η_0 , Па·с	η_1 , Па·с	λ , с	α , %
Р _{ДТ} 35	8.5 ± 0.1	0.24 ± 0.01	45 ± 0.5	8.7 ± 0.1	37 ± 1	97 ± 1
Р _{ДТ} 45	19.7 ± 0.2	0.52 ± 0.01	102 ± 1	20.6 ± 0.2	40 ± 1	97 ± 1
Р _{ДТ} 60	31.8 ± 0.3	0.58 ± 0.01	185 ± 2	28.7 ± 0.2	49 ± 1	98 ± 1

На рис. 67 на примере раствора Р_{ДТ}35 показаны типичные результаты динамических испытаний. Видно, комплексная вязкость убывает при увеличении угловой скорости колебаний, что подтверждает аномальное (неньютоновское поведение). При этом вклад вязкости превышает вклад упругости ($G'' > G'$). С ростом концентрации ДТ значения G' , G'' , η^* возрастали.

Комплексное реологическое исследование позволяет заключить [326, 383–386], что высококонцентрированные растворы обоих полимеров (ПИБ и ДТ) демонстрируют вязкоупругое поведение, обусловленное формированием флуктуационной сетки зацеплений между макромолекулами, что позволяет классифицировать эти растворы как высокоэластические жидкости.

Определяющую роль вязкоупругих свойств раствора полимера при стабилизации относительно коалесценции можно проиллюстрировать на следующем простом опыте (рис. 68). Капля воды вводилась в масляную фазу двухфазной системы раствор Р_{ДТ}35/вода, под действием силы тяжести она оседала и оказывалась на поверхности воды. Капля не сливалась с водной фазой в течение времени наблюдения (50 мин.), что обеспечивается «невыветснностью» тонкой

вязкой прослойки раствора полимера, существующей между каплей и водной фазой.

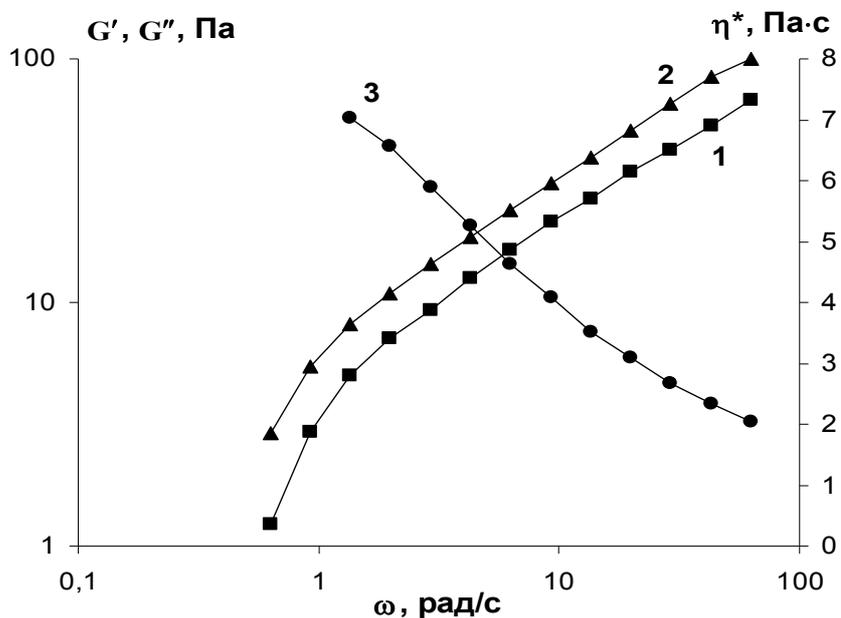


Рис. 67. Зависимости модулей накопления (G' – 1), потерь (G'' – 2) и комплексной вязкости (η^* – 3) от угловой скорости для раствора Р_{дт35}.

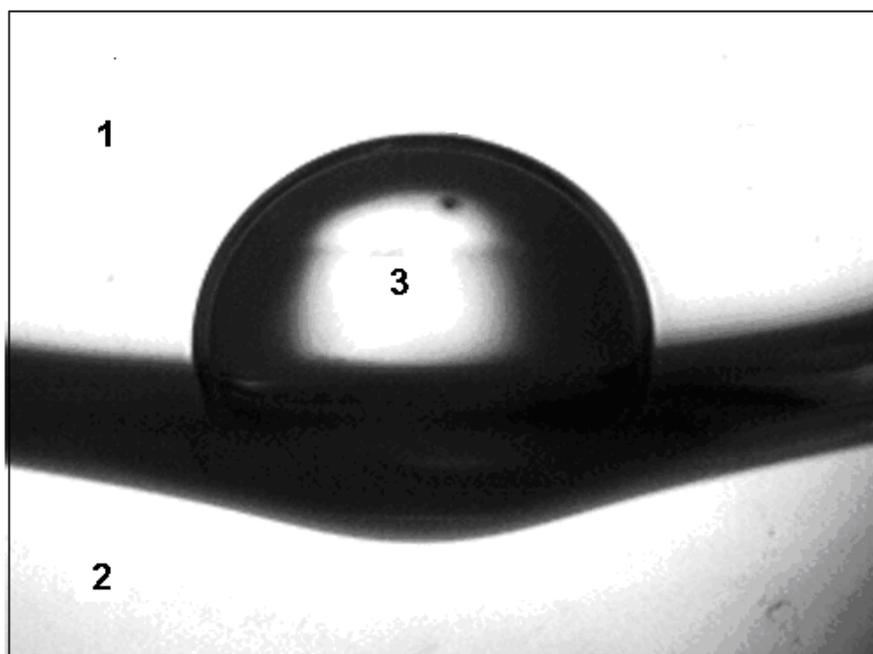


Рис. 68. Капля воды на межфазной границе раствор Р_{дт35}/вода через 50 мин после нанесения капли.

Таким образом, можно с большой вероятностью прогнозировать, что использование растворов исследованных полимеров ($C > 35$ масс. %) в качестве дисперсионной среды позволит разработать стабильные эмульсии В/М и М/В/М, пригодные в качестве основы полимерных адгезивных матриц для доставки липофильных Лк.

Глава 7. ЭМУЛЬСИИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ, СОДЕРЖАЩИЕ КОМПОНЕНТЫ ТРАНСДЕРМАЛЬНЫХ СИСТЕМ, КАК ОСНОВА ПОЛИМЕРНЫХ АДГЕЗИВНЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВ

Катализатором исследования послужила гипотеза о возможности получения микрогетерогенных полимерных адгезивных матриц для доставки липофильных лекарств на основе обратных эмульсий, дисперсной фазой которых являются водные мицеллярные растворы НПАВ или прямые микроэмульсии с инкорпорированным липофильным лекарством. Дисперсионной средой при этом должен быть раствор полимерного адгезива в неполярном легколетучем растворителе как базис будущей полимерной матрицы.

Следует отметить, что двойные эмульсии $\text{масло}_1/\text{вода}/\text{масло}_2$, которые можно получить при осторожном введении миниэмульсии (M_1/V) в раствор липофильного стабилизатора в неполярном растворителе (см. далее раздел 7.1.), также могут быть перспективны для создания полимерных матриц при условии обеспечения их стабильности и включения в состав необходимых для трансдермальной доставки компонентов (полимерного адгезива, усилителя проницаемости кожи, лекарства).

Отметим, что предлагаемый нами подход к получению микрогетерогенных полимерных матриц для доставки лекарств на основе жидкофазных дисперсий различной структуры (обязательно содержащих воду) ранее не разрабатывался, в том числе и в патентной литературе.

7.1. Обратные эмульсии на основе мицеллярных систем и растворов липофильных полимеров – премиксы полимерных матриц

Эмульсии получали весовым методом из ранее приготовленных растворов. В качестве дисперсной фазы использовали мицеллярные растворы Твин 80, насыщенные усилителем проницаемости кожи и лекарством. Как показано нами ранее, в присутствии УП кожи заметно возрастает растворимость лекарства (фелодипина или амлодипина). Дисперсионной средой эмульсий был раствор чувствительного к давлению полимерного адгезива в соответствующем растворителе. Концентрация полимера в растворе была достаточной для того, чтобы обеспечить вязкоупругое поведение (глава 6).

Эмульгирование проводили при осторожном перемешивании с помощью магнитной мешалки. Массовую долю дисперсной фазы (ϕ_m) варьировали в диапазоне 0.20 – 0.45. Тип эмульсии подтверждали ее способностью смачивать силиконизированную (с плохой адгезией) поверхность полиэтилентерефталата (ПЭТ, Loragex 7300 А). Показано, что при $\phi_m > 0.3$ наблюдалось ухудшение пленкообразующих свойств эмульсий. Для исследованных полимерных адгезивов ПИБ и ДТ оптимальное значение ϕ_m составило 0.3, что соответствовало максимально возможной концентрации дисперсной фазы, при которой еще не происходит ухудшения смачивающих и пленкообразующих свойств эмульсии на гидрофобной поверхности.

Полимерные матрицы получали методом полива (рис. 17), когда эмульсия наносится на поверхность ПЭТ слоем известной толщины. Подложкой служил Loragex 7300 А, который используется в трансдермальных пластырях в качестве защитной пленки, удаляемой перед применением. При варьировании толщины нанесения (250, 375, 500, 625 и 750 мкм) показано, что увеличение толщины свыше 625 мкм сопровождается снижением качества пленок. Вместе с тем, при увеличении толщины пленки возрастает концентрация в ней лекарства. Поэтому оптимальной была толщина в 625 мкм. Сушка пленок при 40–50°C продолжалась в течение 30–40 мин. Остаточное содержание органического растворителя во всех случаях не превышало 0.2 масс. % (данные ГХ), что соответствует самым жестким требованиям к ТТС. Высушенные пленки покрывались базовой пленкой (Scotch Pak 9732) и хранились в запаянных фольгированных пакетиках. Определяли их толщину, морфологию, а также способность выделять лекарство.

7.1.1. Обратные эмульсии и пленки на основе полиизобутилена для доставки фелодипина

В качестве дисперсной фазы обратной эмульсии был выбран 10 % масс. ($7.64 \cdot 10^{-2}$ М) водный раствор Твин 80 с солюбилизированными ГМО и фелодипином, т.е. содержащий трехкомпонентные мицеллы. Растворимость фелодипина в этом растворе примерно в 4500 раз превышает его растворимость в воде (глава 3). Дисперсионной средой эмульсии служил 40 масс. % раствор ПИБ в гептане, обладающий вязкоупругими свойствами (глава 6). Эмульсия с массовой

долей дисперсной фазы, равной $\phi_m = 0.3$, была стабильна в течение нескольких суток, обозначим ее как $\mathcal{E}_{\text{мицф}}$. Результаты оптической микроскопии для эмульсии $\mathcal{E}_{\text{мицф}}$ (рис. 69) свидетельствуют о ее полидисперсности ($d \approx 6 - 210 \text{ мкм}$).

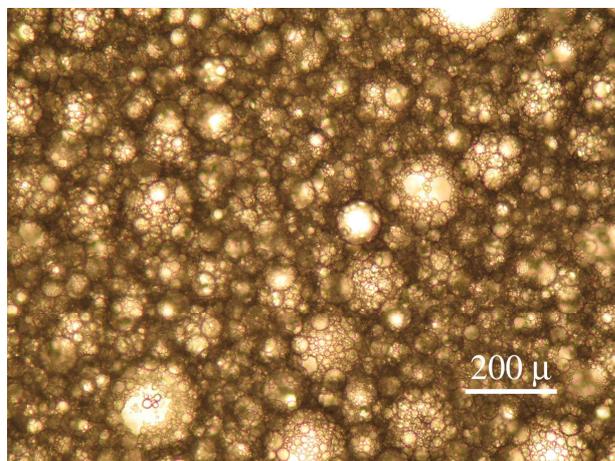


Рис. 69. Морфология эмульсии $\mathcal{E}_{\text{мицф}}$ (оптическая микроскопия).

Полимерные пленки, полученные из эмульсии $\mathcal{E}_{\text{мицф}}$, были визуально прозрачны, их внутреннюю структуру наблюдали с помощью ОМ (рис. 70). Видно, что матрица содержит микродомены. Полученные полимерные матрицы относятся к микрорезервуарному типу. Поскольку влажность полученных пленок составляла $5 \pm 0.5 \%$, можно предположить, что микродомены включают воду (наряду с Φ , ГМО и Твин 80). Толщина пленок составляла $120 \pm 10 \text{ мкм}$, а содержание фелодипина – 71 мкг/см^2 .

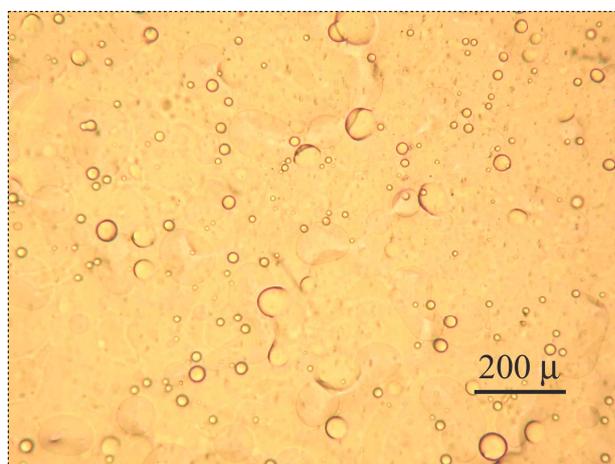


Рис. 70. Морфология полимерной пленки, полученной из обратной эмульсии $\mathcal{E}_{\text{мицф}}$ (оптическая микроскопия).

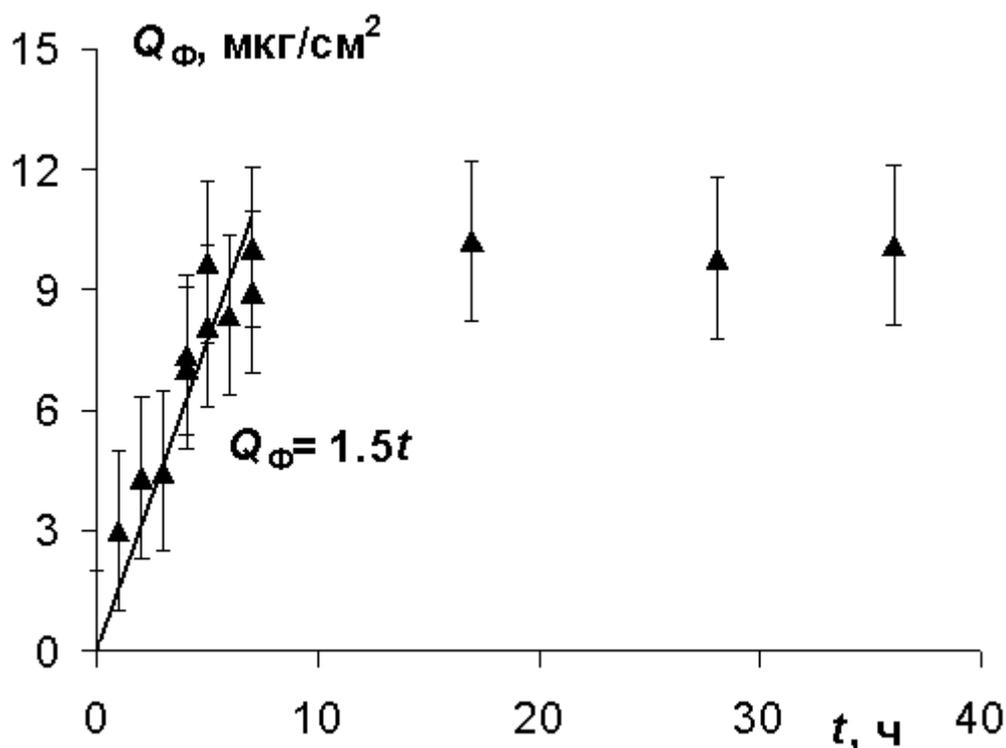


Рис. 71. Зависимость от времени количества фелодипина, выделившегося из пленки на основе обратной эмульсии Э_{мицф}.

Зависимость от времени количества фелодипина, высвободившегося из пленки на основе Э_{мицф} и прошедшего через мембрану (220 нм), представлена на рис. 71. Видно, что в течение 8 часов фелодипин выделяется с постоянной скоростью $dQ/dt = 1.5 \text{ мкг}/(\text{см}^2 \cdot \text{ч})$, после чего его выделение прекращается. Выход Лк составил 14 %.

Трансдермальная терапевтическая система с фелодипином должна удовлетворять следующим требованиям [175]: размер – не более 30 см^2 , целевая скорость выделения Лк – от 0.69 до $2.78 \text{ мкг}/(\text{см}^2 \cdot \text{ч})$, продолжительность применения – от 3 до 7 суток. С учетом этого следует подчеркнуть, что получен, несомненно, позитивный результат, поскольку пленка демонстрирует постоянную целевую скорость выделения лекарства. К сожалению, продолжительность выделения лекарства оказалась недостаточной (8 ч).

7.1.2. Обратные эмульсии и пленки на основе акрилового полимера для доставки амлодипина

Возможность инкорпорирования водных мицеллярных растворов НПАВ с солюбилизированным амлодипином в растворы липофильного акрилового полимера (ДТ) исследована на примере раствора Твин 80 (10 масс. % или $7.64 \cdot 10^{-2}$ М). Этот раствор содержит трехкомпонентные мицеллы (Тв+ГМЛ+Ам), диффузия которых определяет скорость массопереноса лекарства и УП кожи в водной среде (глава 3). Растворимость амлодипина в данном растворе (то есть в дисперсной фазе разрабатываемых эмульсий) составляет $4.28 \cdot 10^{-2}$ М, что примерно в 190 раз превышает его растворимость в воде. Раствор ДТ в этилацетате ($C_{ДТ} = 40$ масс. %), обладающий вязкоупругими свойствами (глава 6), служил дисперсионной средой.

Обратную эмульсию с массовой долей дисперсной фазы, равной 0.3, обозначим как $\mathcal{E}_{\text{мицАм}}$. Эта эмульсия была стабильна в течение недели, размер частиц находился в диапазоне $d \approx 2-50$ мкм (рис. 72).

Таким образом, эмульсия $\mathcal{E}_{\text{мицАм}}$, основным компонентом дисперсионной среды которой является этилацетат, оказалась более стабильной и тонкодисперсной по сравнению с $\mathcal{E}_{\text{мицФ}}$ на основе гептана. Это, по-видимому, обусловлено тем, что межфазное натяжение воды на границе с этилацетатом заметно меньше (примерно на 43 мН/м), чем на границе с гептаном, что и облегчает создание межфазной поверхности капель эмульсии в случае $\mathcal{E}_{\text{мицАм}}$.

Пленки на основе эмульсии $\mathcal{E}_{\text{мицАм}}$ также были визуальны прозрачны, наличие микродоменов наблюдали с помощью ОМ (рис. 73), что позволяет классифицировать матрицы как микрорезервуарные. Толщина пленок составляла 110 ± 5 мкм, а содержание в них амлодипина – 328 мкг/см².

Кинетика высвобождения амлодипина из полимерной матрицы, исследованная с помощью диффузионной ячейки Франца, приведена на рис. 74. При этом пленка наклеивалась на мембрану (с диаметром пор 220 нм), которая контактировала с приемной средой. Видно (рис. 74), что мембранный массоперенос амлодипина в течение 10 ч происходит с постоянной скоростью 3.8 мкг/(см²·ч) и потом прекращается. Выход Лк составлял 11 %.

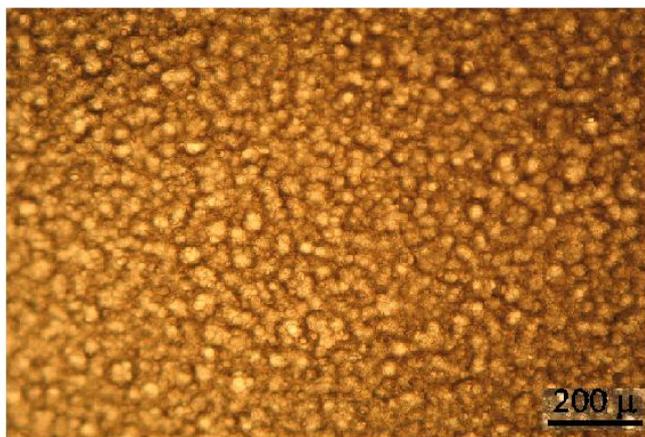


Рис. 72. Морфология эмульсии Э_{МИЦАМ} (оптическая микроскопия).

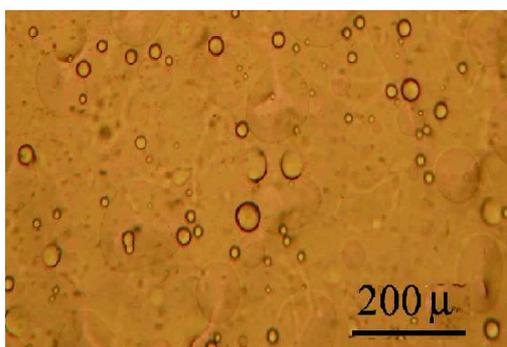


Рис. 73. Морфология полимерной матрицы, полученной из эмульсии Э_{МИЦАМ} (оптическая микроскопия).

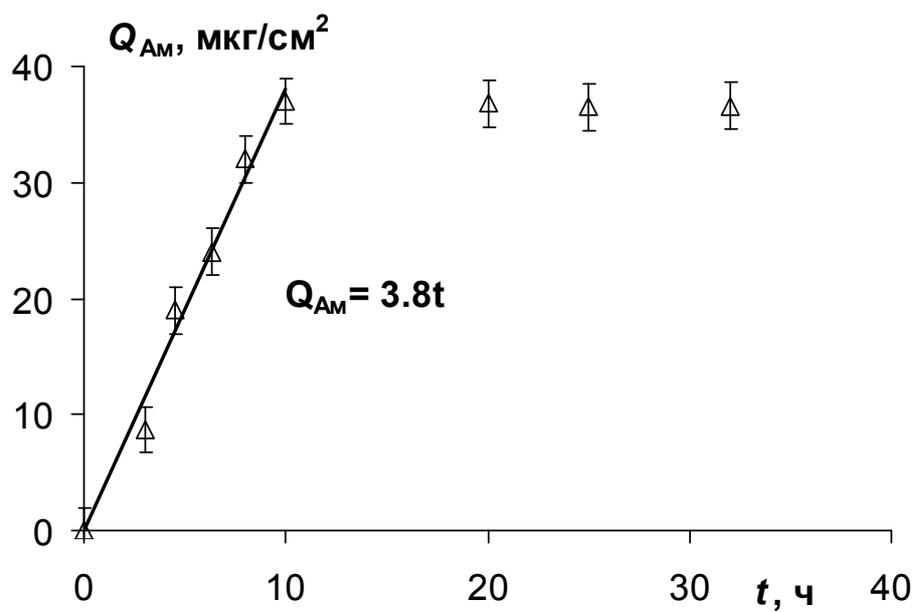


Рис. 74. Зависимость от времени количества амлодипина, высвобождающегося из полимерной матрицы на основе эмульсии Э_{МИЦАМ}.

При пероральном применении суточная доза амлодипина составляет 5 или 10 мг/сутки, а его биодоступность – 64 % [387]. С учетом того, что площадь пластыря не должна превышать 30 см², а биодоступность Ам при трансдермальном введении повышается примерно до 90 % [388], можно рассчитать терапевтически обоснованный интервал скоростей выделения амлодипина из полимерных матриц. Как показали наши расчеты, значения dQ_{Am}/dt должны находиться в диапазоне 6.25–12.50 мкг/(см²·ч). Наблюдаемая нами скорость выделения Ам (рис. 74) оказалась ниже целевой.

Таким образом, для полимерных матриц, базисом которых послужили обратные эмульсии, содержащие в дисперсной фазе инкорпорированное в мицеллы лекарство (фелодипин или амлодипин), продолжительность выделения препарата оказалась недостаточной (не более 7–10 ч). А для амлодипина скорость была ниже терапевтически обоснованной. Эти недостатки можно было бы устранить при увеличении количества лекарства, иммобилизованного в пленку, что, однако, недостижимо, поскольку:

- повысить количество дисперсной фазы в эмульсии невозможно без ухудшения адгезионных свойств пленки, полученной из эмульсии,
- повысить содержание препарата в дисперсной фазе также нельзя, поскольку мицеллы – носители Лк, являются самоорганизованными структурами, способными иммобилизовать лишь термодинамически обоснованное количество солюбилизиата.

Тем не менее, обратные эмульсии с мицеллярной дисперсной фазой могут быть использованы в гелеобразном виде для накожного нанесения.

7.2. Эмульсии на основе прямых микроэмульсий с лекарством и растворов липофильного полимера как премиксы полимерных матриц

Поскольку микроэмульсионные системы обладают большей солюбилизирующей емкостью по отношению к гидрофобным лекарствам, нежели мицеллы (глава 4), целесообразно исследовать возможность инкорпорирования прямых МЭ в растворы липофильных полимеров и оценить перспективы получения полимерных матриц в рамках данной платформы.

Прямые микроэмульсии с лекарством (IV тип по классификации Винзора, см. главу 4) использовали в качестве дисперсной фазы разрабатываемых эмульсий, а раствор липофильного АЧД в соответствующем растворителе – в качестве дисперсионной среды. Поясняющая схема приведена на рис. 75.

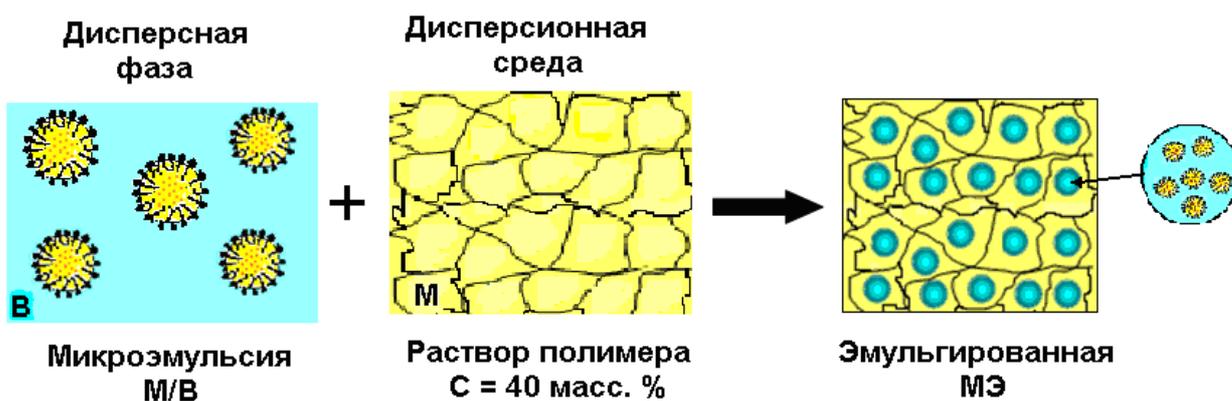


Рис. 75. Схема, поясняющая процесс получения эмульгированной МЭ.

Анализировали влияние массовой доли дисперсной фазы на стабильность и пленкообразующие свойства полученных эмульсий. Процедура приготовления полимерных матриц из эмульсий с оптимальными значениями ϕ описана ранее в данной главе.

7.2.1. Эмульгированные микроэмульсии и пленки на основе полиизобутилена для доставки фелодипина

При разработке эмульсий для фелодипина в качестве дисперсной фазы использовали прямую микроэмульсию МЭ_ф, характеризующуюся высокой постоянной скоростью мембранного массопереноса фелодипина (рис. 40), ее состав приведен в таблице 17 (глава 4). Дисперсионной средой был выбран 40 масс. % раствор смеси полиизобутиленов с различной молекулярной массой и полибутена в гептане. Обоснование выбора концентрации раствора полимера на основе реологических исследований приведено в главе 6. Оптимальное значение массовой доли дисперсной фазы в эмульсии оказалось равным 0.3, при более высоких

значениях φ_m наблюдалось ухудшение пленкообразующих свойств эмульсии. Полученную эмульсию с $\varphi_m = 0.3$ обозначим $\mathcal{E}_{MЭФ}$.

Принадлежность $\mathcal{E}_{MЭФ}$ к обратным эмульсиям подтверждена отличным смачиванием предельно гидрофобной поверхности (силиконизированная сторона ПЭТ Loparex 7300A). Диаметр капель $\mathcal{E}_{MЭФ}$ находился в диапазоне 1–26 мкм (рис. 76), что на порядок ниже, нежели в случае эмульсии В/М, дисперсной фазой которой служил мицеллярный раствор Твин 80 (рис. 69). Эмульсия $\mathcal{E}_{MЭФ}$ была гораздо более стабильна (несколько недель), нежели обратная эмульсия на основе мицеллярного раствора.

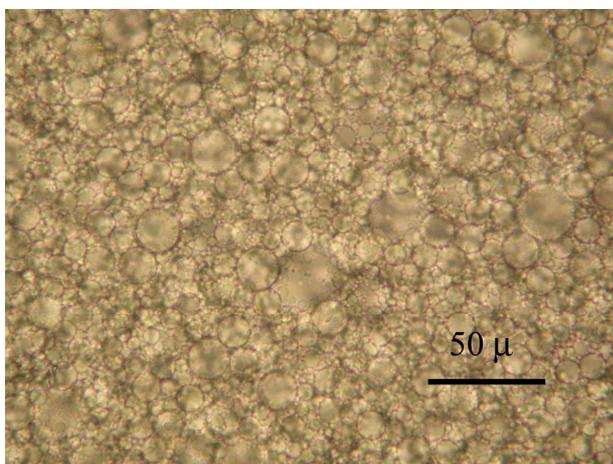
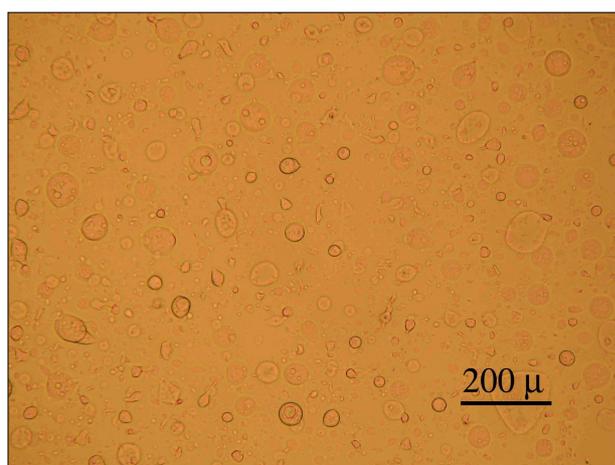


Рис. 76. Морфология эмульсии $\mathcal{E}_{MЭФ}$ на основе прямой микроэмульсии с фелодипином и раствора ПИБ в гептане (оптическая микроскопия).

Пленки были визуально прозрачны, их внутреннюю микроструктуру наблюдали с помощью ОМ (рис. 77). Из этого рисунка видно, что полимерная матрица содержит микродомены. Таким образом, полученную пленку можно отнести к микрорезервуарному типу.

Следует отметить, что в наиболее крупных микродоменах с диаметром ≈ 50 мкм, удастся увидеть более мелкие капельки (рис. 77б). Это подчеркивает тот факт, что эмульсия, дисперсной фазой которой является прямая микроэмульсия, по сути является двойной эмульсией $\text{масло}_1/\text{вода}/\text{масло}_2$. Причем принадлежность **эмульгированных микроэмульсий** к типу ДЭ очень сложно доказать вследствие наноразмеров их внутренней дисперсной фазы. В данном же случае при нанесении

эмульсии на подложку (в процессе получения полимерной матрицы) возникшие сдвиговые напряжения вызывают, по-видимому, некоторую деградацию эмульсии, что выявляет ее внутреннюю структуру и подтверждает принадлежность к двойным эмульсиям. Очень важно, что в данном случае ДЭ $M_1/V/M_2$, первая стадия процесса получения которой является энергоемкой, была получена практически в отсутствие энергетических затрат.



а)



б)

Рис. 77 (а, б). Полимерная матрица на основе эмульсии $\mathcal{E}_{MЭФ}$ с фелодипином (а), увеличенное изображение микродоменов (б). Данные ОМ.

Толщина пленок после бережной сушки составила 120 ± 5 мкм, а концентрация фелодипина – 320 ± 10 мкг/см². Выделение фелодипина из полимерных матриц изучали с помощью диффузионной ячейки Франца. Процедура описана ранее в данной главе. Зависимость от времени количества фелодипина, выделившегося из пленки на основе $\mathcal{E}_{MЭФ}$ представлена на рис. 78.

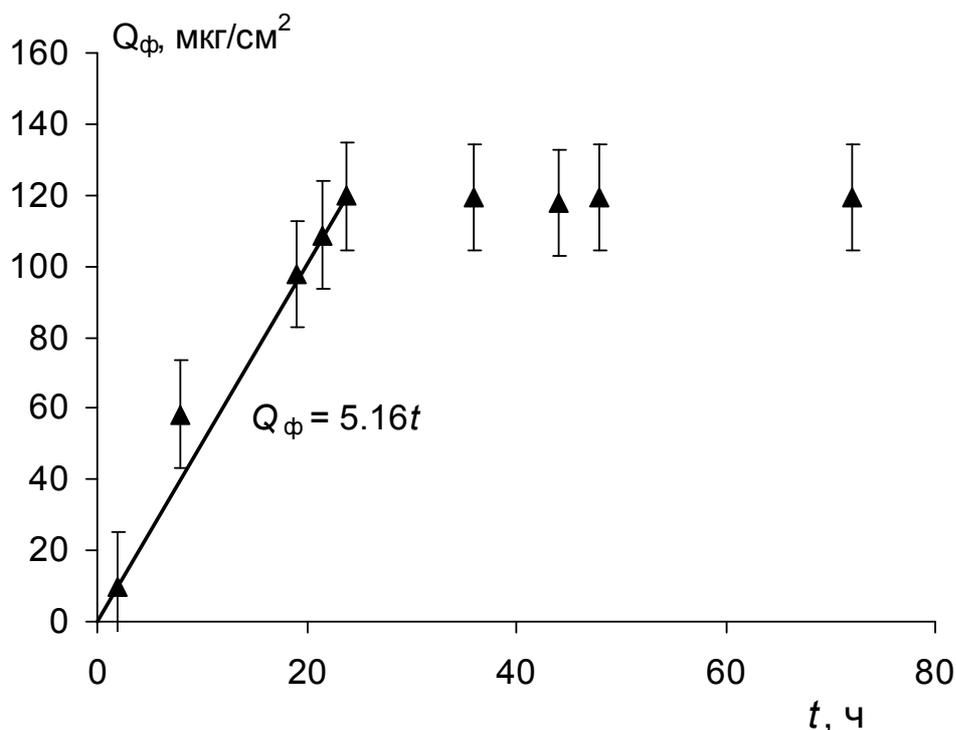


Рис. 78. Кинетика мембранного массопереноса фелодипина из эмульсии Э_{МЭФ} с микроэмульсионной дисперсной фазой.

Видно (рис. 78), что в течение суток фелодипин выделяется с постоянной скоростью 5.2 ± 0.4 мкг/(см²·ч), потом его выделение прекращается, выход составляет 37 % от первоначального количества Ф в пленке. Пленка обладала хорошей адгезией к коже. Наблюдаемая скорость мембранного массопереноса фелодипина из матрицы на основе эмульсии Э_{МЭФ} оказалась примерно в 2 раза выше терапевтически обоснованной скорости для пластыря площадью 30 см² (см. стр. 163). Поэтому в данном случае за счет уменьшения площади матрицы до 15 см² можно получить нужное соответствие целевым результатам.

Таким образом, на основе эмульгированной МЭ, содержащей фелодипин и ПИБ, были получены пленки микрорезервуарного типа, которые вполне могут использоваться в качестве пластыря суточного применения [389, 390].

7.2.2. Эмульгированные микроэмульсии и пленки на основе акрилового полимера для доставки амлодипина

Для разработки эмульсии, дисперсной фазой которой должна стать прямая МЭ, нами при введении в МЭ2 (табл. 18) повышенной концентрации амлодипина

была получена микроэмульсия $MЭ_{AM3}$, содержащая 14 масс. % лекарства (табл. 26). При использовании $MЭ_{AM3}$ в качестве дисперсной фазы и 35 масс. % раствора акрилового полимера (Duro-Tak 87900A) в этилацетате в качестве дисперсионной среды при очень осторожном перемешивании на магнитной мешалке была получена эмульсия $Э_{MЭAM}$, ее состав приведен в табл. 26. Массовая доля дисперсной фазы в эмульсии $Э_{MЭAM}$ составляла 0.35. Эмульсия была стабильна в течение нескольких недель. Данная эмульсия была достаточно тонкодисперсной (рис. 79), диаметр частиц находился в интервале 1–10 мкм.

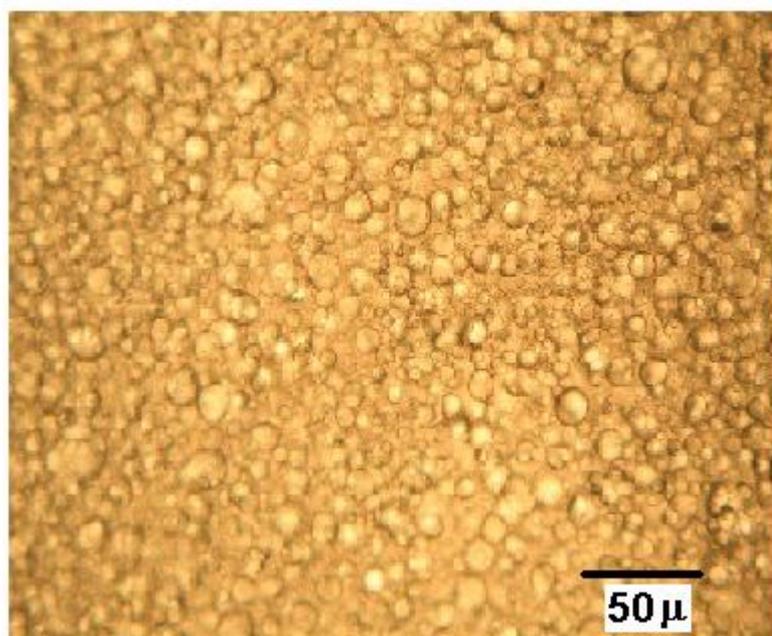


Рис. 79. Морфология эмульсии $Э_{MЭAM}$ (оптическая микроскопия).

Техника получения пленок из эмульсий методом полива и условия сушки описаны в начале данной главы. В данном случае толщина нанесения составляла 625 мкм. Отсутствие этанола и этилацетата в матрице после сушке подтверждено ГХ анализом. Остаточное содержание воды определяли по разности массы пленок до и после выдерживания в эксикаторе с хлоридом кальция при комнатной температуре в течение суток [391, 392]. Состав полимерной матрицы приведен в табл. 26.

Таблица 26. Составы микроэмульсии МЭ_{Ам3}, эмульсии Э_{МЭАм} и полимерной матрицы на основе Э_{МЭАм}.

Компонент	Микроэмульсия МЭ _{Ам3}	Обратная эмульсия Э _{МЭАм}	Пленка на основе эмульсии Э _{МЭАм}
	Концентрация, масс. %		
Амлодипин	14.0	4.9	11.8
Вода	29.0	10.2	5.1
Этанол	23.5	8.2	0
Твин 80	21.1	7.4	17.8
ИПМ	10.1	3.5	8.5
ГПЦ	2.3	0.8	1.9
ДТ	0	22.8	54.8
Этилацетат	0	42.3	0

На рис. 80 представлена морфология пленки на основе Э_{МЭАм}. Наличие микродоменов позволяет отнести данную полимерную матрицу к микрорезервуарному типу. При этом внутренняя структура микродоменов видна даже более отчетливо, нежели для пленок с фелодипином на основе Э_{МЭФ}. Таким образом, эмульгированная микроэмульсия с Ам по сути является двойной эмульсией М₁/В/М₂ с наноразмерной внутренней дисперсной фазой, наличие которой подтверждается лишь при воздействии сдвиговых напряжений в процессе получения полимерной матрицы методом полива.

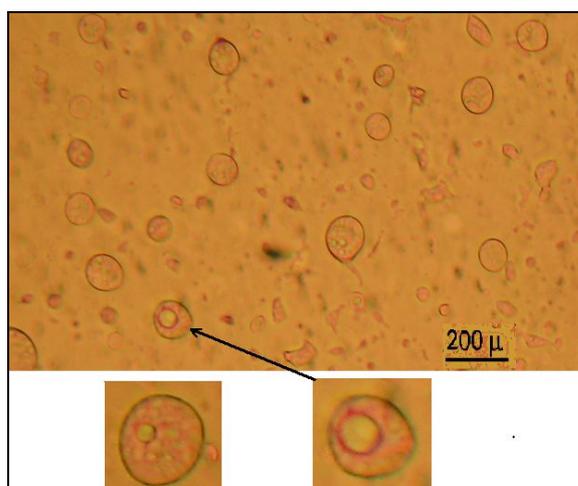


Рис. 80. Морфология полимерной матрицы, полученной из эмульсии Э_{МЭАм} (оптическая микроскопия).

Толщина пленки после бережной сушки составила 115 ± 5 мкм, а концентрация в ней амлодипина – 2800 ± 10 мкг/см². Трансдермальный массоперенос амлодипина из пленок изучали с помощью диффузионной ячейки Франца в опытах *in vitro* на коже человека (мужчина 47 лет, скончавшийся от кардиомиопатии) Кожа характеризовалась средней проницаемостью (для стандартного Лк – окситрола скорость массопереноса составляла 3.3 мкг/(см²·ч)). Кинетика трансдермального массопереноса амлодипина из полимерной матрицы на основе эмульсии Э_{МЭАМ} представлена на рис. 81. Видно, что выделение Ам начинается через 2.9 ч и далее в течение 48 ч (время наблюдения) происходит с постоянной скоростью 8.3 мкг/(см²·ч), соответствующей среднему значению целевой скорости для амлодипина (см. стр. 166). За время наблюдения выход лекарства составил примерно 13 %.

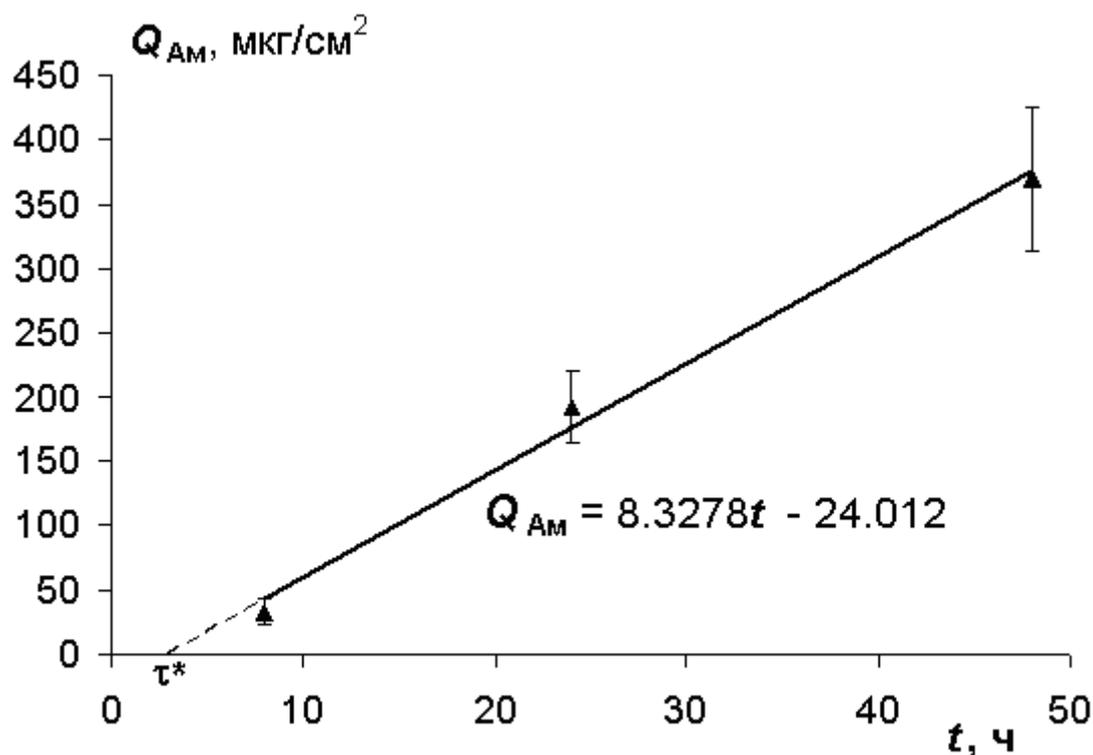


Рис. 81. Кинетика трансдермального массопереноса амлодипина из полимерной матрицы на основе эмульсии Э_{МЭАМ} через кожу человека в опытах *in vitro* (кожа средней проницаемости, скорость выделения для стандартного Лк – окситрола составляла 3.3 мкг/(см²·ч)).

В заключение данного раздела следует отметить, что концепция эмульгированных микроэмульсий была сформулирована Пилманом с соавторами как новый подход к получению двойных эмульсий В/М/В [393]. Предлагалось введение микроэмульсии В/М в водный раствор стабилизирующего белка [393]. Вместо эмульгирования МЭ авторы [393] исследовали возможность инкорпорирования термодинамически устойчивой жидкокристаллической фазы обратного типа (так называемой L_2 -фазы) в водные растворы казеината. Компонентный состав, соответствующий формированию самоорганизованной L_2 -фазы, определяли на основании фазовых диаграмм для трехкомпонентных систем монолаурин–вода–соевое масло и тетраглицерол монолаурин–вода–соевое масло. Показано пролонгированное выделение модельного водорастворимого вещества (метиленового синего) из эмульгированных мезофаз [393].

К сожалению, эта многообещающая концепция вплоть до недавнего времени не получала развития, что во многом обусловлено сложностями при ее практической реализации, а также при подтверждении стабильности МЭ в процессе инкорпорирования в раствор стабилизатора. Прорыв был сделан в работе [394] при исследовании влияния концентрации тетрадекана на структурные превращения в трехкомпонентной системе моноолеин–вода–Плюроник F127 при комнатной температуре, а также влияния температуры при постоянной концентрации тетрадекана. Впервые методами малоуглового рассеяния X-лучей и криогенной трансмиссионной электронной микроскопии (cryo-TEM) была экспериментально подтверждена принципиальная возможность диспергирования обратных МЭ в водной фазе в присутствии высокомолекулярного НПАВ при сохранении внутренней структуры МЭ. Фактически, эти коллоидные системы являются двойными эмульсиями В/М/В, где вместо первичной обратной термодинамически неустойчивой первичной субмикронной эмульсии (миниэмульсии) использована самоорганизованная обратная микроэмульсия [394].

В нашей работе впервые были получены эмульгированные прямые микроэмульсии, являющиеся, по сути, двойными эмульсиями $M_1/V/M_2$. Также впервые на их основе разработаны полимерные адгезионные матрицы микрорезервуарного типа, перспективные для трансдермальной доставки липофильных лекарств [317].

7.3. Двойные эмульсии масло₁/вода/масло₂, содержащие полимерный адгезив, и матрицы на их основе для доставки липофильных лекарств

Напомним, что двойные эмульсии масло₁/вода/масло₂, как правило, получают в две стадии (раздел 1.2.). На первой стадии при интенсивном диспергировании создают миниэмульсию масло₁/вода с субмикронными размерами частиц, на второй – выполняют осторожное диспергирование первичной миниэмульсии в растворе липофильного стабилизатора в неполярном растворителе. Подчеркнем, что в отличие от ДЭ с водной внешней дисперсионной средой (тип вода/масло/вода), двойные эмульсии M₁/B/M₂ сложнее получить в стабильном состоянии вследствие ограниченного круга факторов стабилизации, действующих в неполярных средах, поэтому они менее изучены. До настоящего времени не разработаны ДЭ, содержащие компоненты, обязательные для получения полимерных адгезивных матриц трансдермального назначения. Более того, ДЭ ранее не использовались для таких целей.

На основе результатов тензиометрических измерений и данных дисперсионного анализа изучено влияние целевых компонентов (обязательных для ТДС) на стабильность субмикронных эмульсий гептан/вода (глава 5). Показано, что оствальдово созревание является ключевым механизмом деградации. С учетом различных механизмов ингибирования ОС разработана стабильная высококонцентрированная миниэмульсия гептан/вода, содержащая обязательные для трансдермальной доставки компоненты и пригодная для инкорпорирования целевых лекарственных веществ (глава 5).

На основе изучения влияния концентрации ПИБ или ДТ (относящихся к классу АЧД) в неполярном растворителе на реологические свойства растворов полимеров сделан прогноз относительно перспективности применения растворов, характеризующихся вязкоупругим поведением, в качестве внешней дисперсионной среды ДЭ (глава 6). Предполагается, что кинетическая стабильность ДЭ будет обеспечиваться за счет вязкоупругих свойств флуктуационной сетки зацеплений между макромолекулами полимера. Эта предположение нуждается в экспериментальном подтверждении. Кроме того, влияние инкорпорирования дисперсной фазы (т.е. прямой миниэмульсии) на реологические свойства раствора

полимера (внешней дисперсионной среды ДЭ) также необходимо исследовать и учитывать.

Данный раздел посвящен изучению свойств ДЭ $M_1/V/M_2$, полученных в результате инкорпорирования прямых миниэмульсий в растворы АЧД, обладающие вязкоупругими свойствами, а также полимерных матриц на основе этих эмульсий. Двойные эмульсии будут обозначаться аббревиатурой ДЭ_XY (где X отражает наличие или отсутствие соответствующего лекарства и тип полимера, а Y – концентрацию раствора полимера, являющегося внешней дисперсионной средой). Например, двойная эмульсия с фелодипином, полученная на основе 35 масс. % ПИБ в гептане, обозначается как ДЭ_{ФИБ}35, а без лекарства – ДЭ_{ПИБ}35.

Массовая доля первичной эмульсии в двойной эмульсии $(\varphi_{(M1/V)})^{ДЭ} = W_{(M1/V)}/W_{ДЭ}$, где $W_{(M1/V)}$ и $W_{ДЭ}$ – масса первичной прямой эмульсии и двойной эмульсии, соответственно) составляла 0.35–0.45, что характерно для умеренно концентрированных эмульсий.

7.3.1. Двойные эмульсии $масло_1/вода/масло_2$ на основе полиизобутиленов и пленки для доставки фелодипина

Двойные эмульсии на основе полиизобутиленов готовили весовым способом из свежеприготовленной первичной миниэмульсии M_1/V и высококонцентрированного раствора ПИБ в гептане ($R_{ПИБ38}$ или $R_{ПИБ47}$, содержащего соответственно 37.8 или 46.7 масс. % полимера). При этом миниэмульсию постепенно при осторожном перемешивании добавляли в раствор полимера, который являлся внешней дисперсионной средой двойной эмульсии (фаза M_2). Массовая доля миниэмульсии в ДЭ составляла 0.45. Полученные двойные эмульсии представляли собой вязкие молочно-белые жидкости. Составы ДЭ_{ПИБ38} и ДЭ_{ПИБ47} приведены в табл. 27.

По визуальным наблюдениям стабильность ДЭ возрастала с увеличением концентрации полимера. Так, ДЭ_{ПИБ47} была стабильна в течение трех суток, а ДЭ_{ПИБ38} – одни сутки. Поскольку рост концентрации полимера в растворе, как показано в главе 6, сопровождается увеличением эффективной вязкости и параметров модели Бюргерса (см. табл. 24), можно утверждать, что вязкоупругие

свойства внешней дисперсионной среды – ключевой фактор стабилизации ДЭ, содержащих ПИБ.

Таблица 27. Составы двойных эмульсий $M_1/V/M_2$ на основе растворов полиизобутилена в гептане

Фаза ДЭ	Компонент	Назначение	Концентрация в фазах ДЭ, масс. %	Массовая доля фазы в ДЭ, %
Внутренняя дисперсная фаза M_1	Гептан	растворитель	82.8	15.75
	Этанол	соразтворитель	7.2	
	ГМО	УП кожи, ингибитор ОС	10	
Промежуточная водная фаза В	Вода	растворитель, УП кожи	85	29.25
	ГПЦ	стабилизатор, загуститель, ингибитор ОС	10	
	Твин 80	эмульгатор, ингибитор ОС	5	
Внешняя дисперсионная среда M_2	Гептан	растворитель	62.2 (ДЭ _{ПИБ38}) 53.3 (ДЭ _{ПИБ47})	55
	ПИБ	структурообразователь, адгезив	37.8 (ДЭ _{ПИБ38}) 46.7 (ДЭ _{ПИБ47})	

Оптическая микроскопия, как известно, не позволяет регистрировать частицы субмикронных размеров, поэтому морфологию ДЭ с помощью этого метода удастся наблюдать лишь с помощью специальной методики [395, 396]. При наложении на образец покровного стекла, смоченного соответствующим растворителем, ускоряется процесс разрушения ДЭ, сопровождаемый укрупнением капель внутренней дисперсной фазы. Только при таких условиях удастся наблюдать характерную для ДЭ внутреннюю структуру [395, 396]. В качестве примера на рис. 82а для эмульсии ДЭ_{ПИБ47} представлена микрофотография,

полученная методом ОМ при наложении покровного стекла, смоченного гептаном. Видны отдельные капли размером от ~ 2 до ~ 15 мкм со сложным внутренним строением (наличие более мелких частиц). Также видны микрогетерогенные области чуть большего размера, которые, по-видимому, образовались в результате коалесценции (вследствие наложения покровного стекла). Наблюдаемая морфология (рис. 82) типична для двойных (множественных) эмульсий.

Более детально морфология ДЭ видна на рис. 82б и 83, где представлены данные ОМ для двойной эмульсии с тем же составом фаз, что у ДЭ_{ПИБ47}, но с меньшим содержанием первичной миниэмульсии (10 масс. %). На этих рисунках отчетливо видно, что внутри крупных капель находятся более мелкие капельки, что типично для ДЭ. Для сравнения на рис. 84 приведены данные ОМ для простой обратной эмульсии В/М₂ с тем же массовым содержанием дисперсной фазы (10 %) и составами фаз В и М₂ аналогичными составам водной прослойки и внешней дисперсионной среды ДЭ (см. табл. 27). Рис. 84 подтверждает отсутствие внутренней структуры у капель дисперсной фазы простой эмульсии.

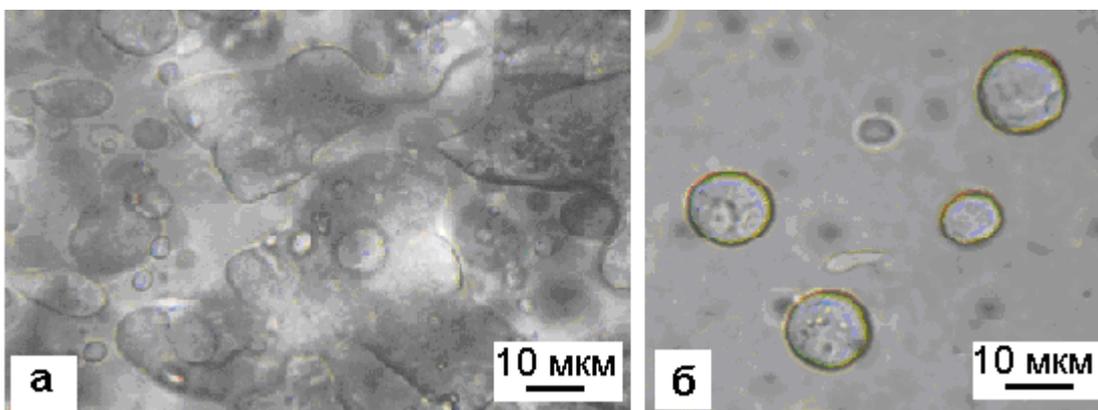


Рис. 82 (а, б). Морфология ДЭ на основе 47 масс. % раствора ПИБ в гептане с различной массовой долей миниэмульсии без Лк: 1 – 0.45 и 2 – 0.10 масс. долей.

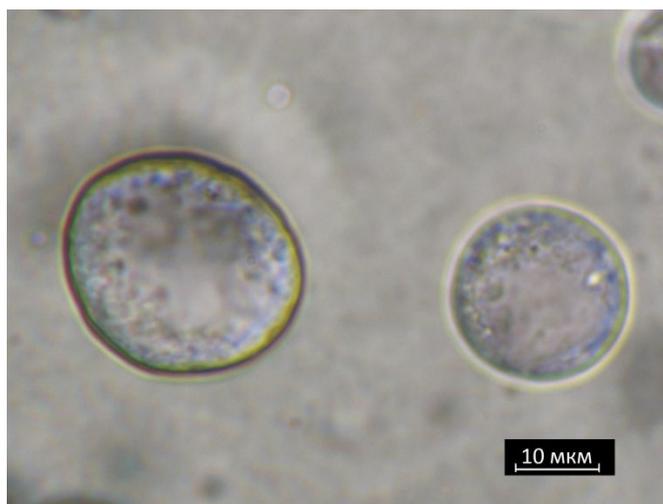


Рис. 83. Морфология ДЭ на основе 47 масс. % раствора ПИБ в гептане с 0.10 массовой долей первичной миниэмульсии без Лк (оптическая микроскопия).

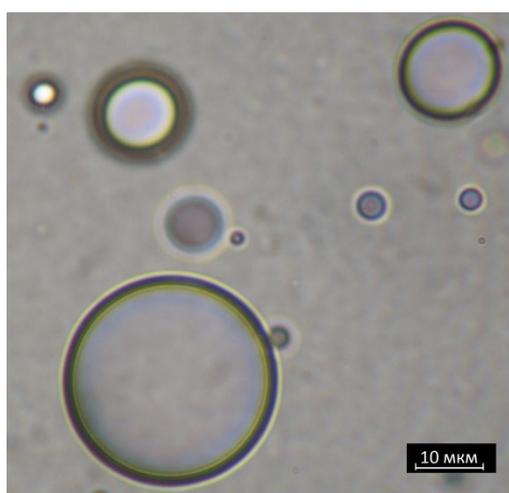


Рис. 84. Морфология простой обратной эмульсии В/М₂ (оптическая микроскопия). Составы дисперсной фазы В и дисперсионной среды М₂ приведены в табл. 27.

Следует отметить, что, в отличие от простых эмульсий, реология двойных эмульсий пока еще мало изучена, при этом имеющиеся работы в основном посвящены эмульсиям В/М/В [397–401]. Вместе с тем, реологические свойства во многом определяют перспективы использования ДЭ как основы полимерных

матриц, а также могут служить косвенным методом оценки их структурных особенностей.

Для разработанных на основе ПИБ двойных эмульсий было проведено комплексное реологическое исследование. Условия и режимы испытаний описаны выше в главе 6, посвященной реологическим свойствам растворов полимеров. Отметим лишь, что при осцилляционных измерениях амплитуда напряжения сдвига составляла 0.5 Па (область линейной вязкоупругости). Образцы ДЭ были свежеприготовленными. Типичные результаты на примере ДЭ_{ПИБ47} приведены на рис. 85–88.

Рис. 85 (а, б) представляет кривые течения и вязкости для ДЭ_{ПИБ47} и соответствующего раствора ПИБ. Наблюдается неньютоновское поведение, причем эффективная вязкость ДЭ при низких скоростях деформации ($d\gamma/dt < 3 \text{ с}^{-1}$) превышает вязкость раствора полимера, а с увеличением скорости их значения оказываются близки (рис. 85б). Это, по-видимому, свидетельствует о наличии в ДЭ коагуляционной структуры, разрушающейся при наложении даже небольших напряжений сдвига. В целом реологическое поведение ДЭ определяется реологическими свойствами внешней дисперсионной среды, то есть зависит от свойств полимерной сетки зацеплений.

Из рис. 86 следует, что экспериментально полученная в режиме ползучесть-восстановление кинетика деформации для ДЭ_{ПИБ47} хорошо совпадает с результатами расчетов по модели Бюргерса (глава 6), что подтверждает вязкоупругие свойства исследуемой коллоидной дисперсии. Сопоставление данных для ДЭ_{ПИБ47} и соответствующего раствора Р_{ПИБ47} приведено на рис. 87. Видно, что характер кривых $\gamma(t)$ в обоих случаях одинаков (модель Бюргерса). Значение параметров уравнения Бюргерса (уравнение 39) представлены в табл. 28. Следует отметить, что значения γ примерно на порядок ниже (рис. 87), а значения модулей упругости и вязкости демпферов модели заметно выше (табл. 28) в случае ДЭ по сравнению с раствором полимера, время релаксации при этом уменьшается. Результаты динамических испытаний (рис. 88) показали, что, в отличие от раствора полимера (рис. 61), двойную эмульсию характеризует превышение модуля упругости над модулем потерь.

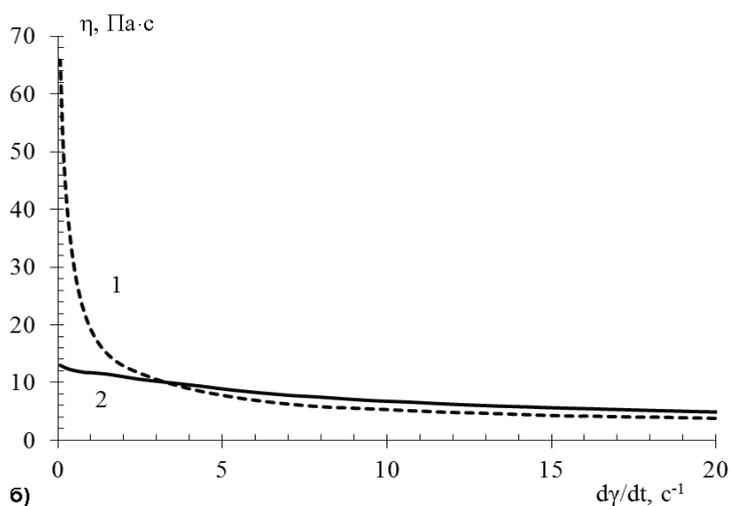
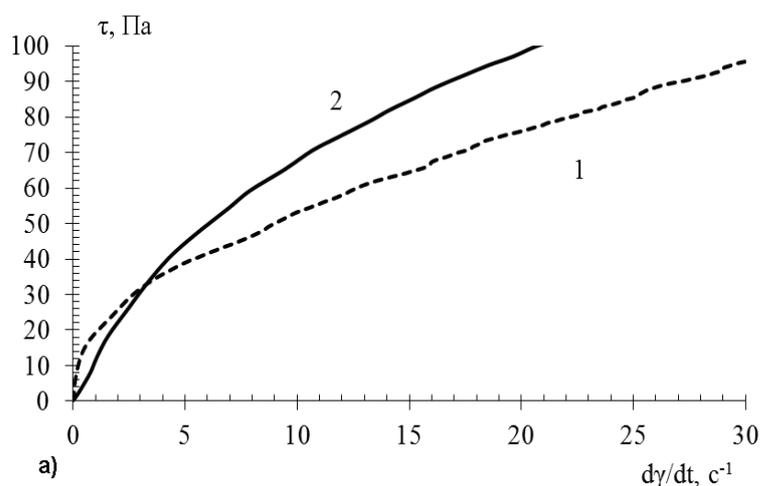


Рис. 85 (а, б). Кривые течения (а) и вязкости (б) для двойной эмульсии ДЭ_{ПИБ}47 (1) и соответствующего раствора полимера Р_{ПИБ}47 (2).

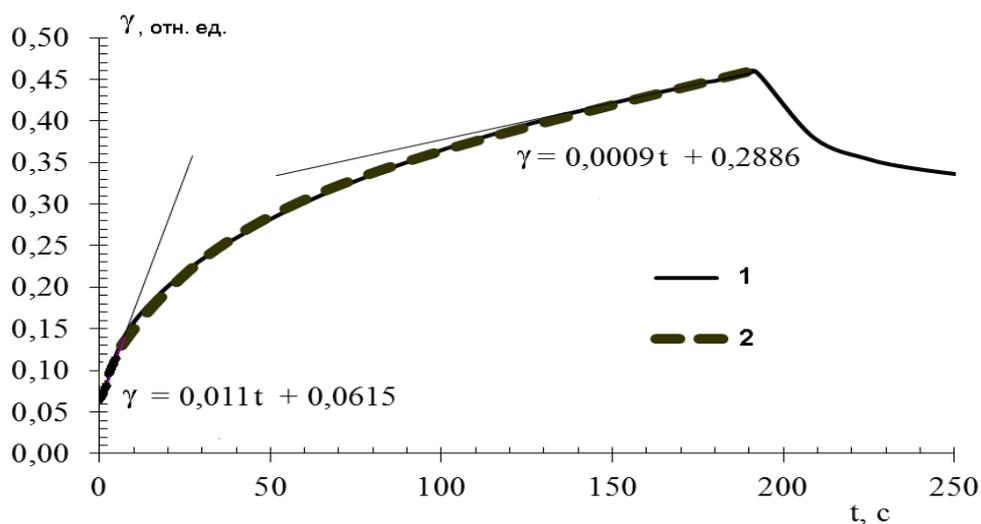


Рис. 86. Сопоставление экспериментальной (1) и рассчитанной в рамках модели Бюргера (2) зависимостей деформации от времени для ДЭ_{ПИБ}47 (режим ползучесть–восстановление).

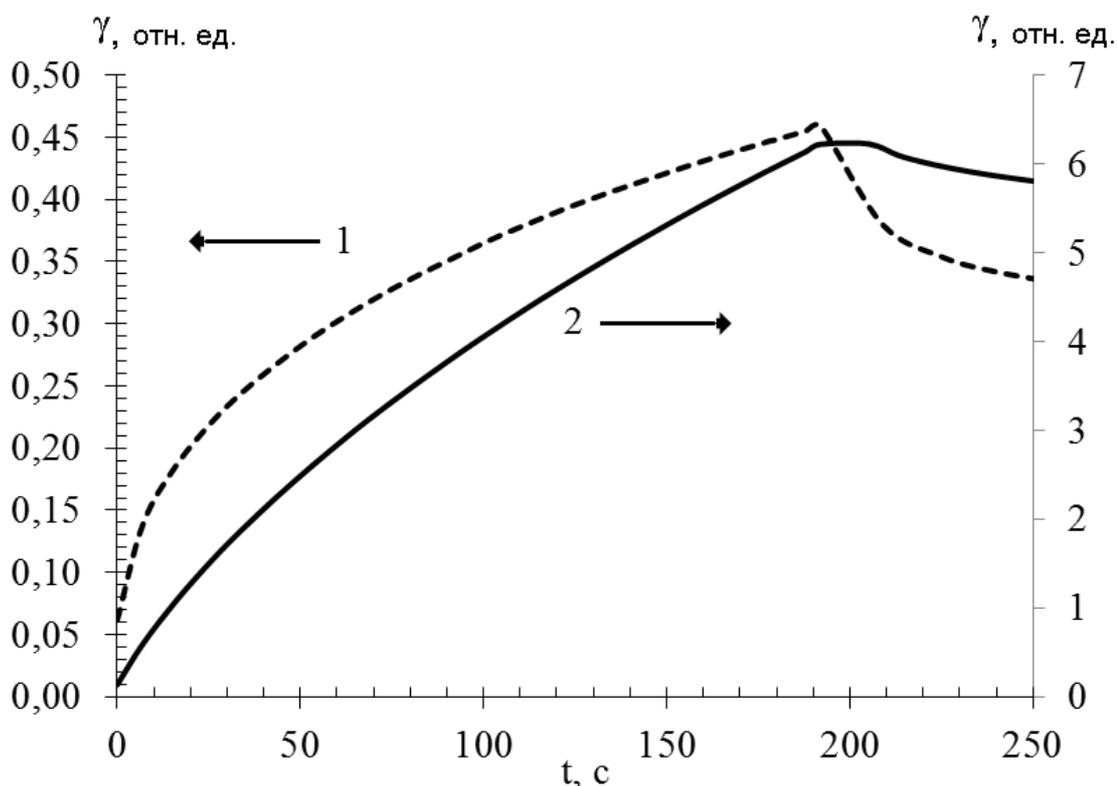


Рис. 87. Зависимости деформации от времени на стадиях ползучести и восстановления для ДЭ_{ПИБ47} (1, основная ось) и соответствующего раствора полимера Р_{ПИБ47} (2, вспомогательная ось).

Таблица 28. Значения параметров модели Бюргера для Р_{ПИБ47} и ДЭ_{ПИБ47}

Образец	G_0 , Па	G_1 , Па	η_0 , Па·с	η_1 , Па·с	λ , с
Р _{ПИБ47}	7.5 ± 0.1	0.5 ± 0.01	46.7 ± 0.4	23.6 ± 0.2	47 ± 1
ДЭ _{ПИБ47}	11.3 ± 0.1	5.0 ± 0.1	1100 ± 20	99.0 ± 0.5	20 ± 2

Совокупность этих данных позволяет заключить, что капли воды в ДЭ с высоким содержанием первичной эмульсии М₁/В (~49 об. %), по-видимому, формируют коагуляционную структуру, которая, наряду с сеткой зацеплений между макромолекулами полимера во внешней дисперсионной среде, определяет реологические свойства данной жидкофазной дисперсной системы [385]. Формирование перколяционных кластеров из капель воды в обратных эмульсиях с различным объемным содержанием дисперсной фазы исследовано методом динамики Ланжевена в работе [402]. Показано, что в эмульсиях с $\phi > 0.3-0.4$ практически все капли воды за доли секунды объединяются в перколяционный

кластер. Это коррелирует с экспериментально подтвержденной седиментационной устойчивостью концентрированных обратных эмульсий, которую авторы [402] связывают с возникновением армирующей перколяционной структуры.

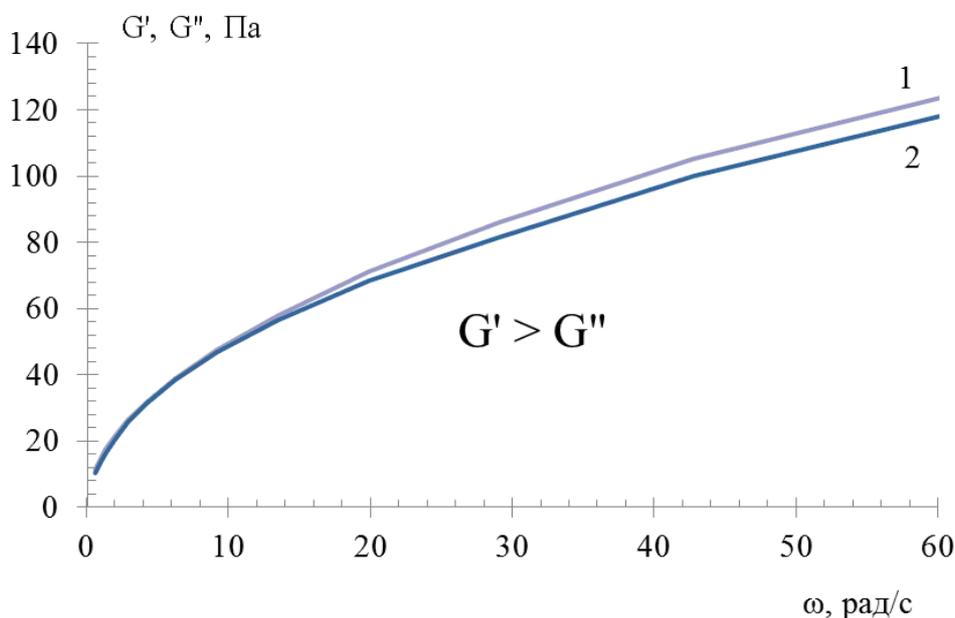


Рис. 88. Зависимости модулей упругости G' (1) и потерь G'' (2) для двойной эмульсии ДЭ_{ПИБ47}.

Наличие коагуляционных контактов между каплями воды, по-видимому, является следствием относительно высоких значений σ на внешней межфазной границе двойной эмульсии. Это подтверждают данные таблицы 29, в которой приведены результаты тензиометрических измерений для границы раздела фаз вода/гептан, моделирующей внешнюю межфазную границу раздела ДЭ на основе ПИБ. Видно (табл. 29), что присутствие ПИБ в пределах ошибок опыта не изменяет σ , что свидетельствует об индифферентном поведении липофильного полимера (отсутствии адсорбции). При адсорбции Твин 80 и ГПЦ межфазное натяжение уменьшается до нескольких единиц мН/м. При таких значениях межфазной энергии дисперсные системы неустойчивы относительно коагуляции [109].

Фелодипин в ДЭ инкорпорировали на первой стадии процесса. При этом в качестве дисперсной фазы миниэмульсий M_1/V использовали 10 масс. % раствор ГМО в бинарной смеси гептан/этанол (92/8, масс.), насыщенный фелодипином. Растворимость фелодипина в этом растворе по нашим данным составляет $3.35 \cdot 10^{-2}$

M (или 1.86 масс. %). Процедура приготовления двойных эмульсий с лекарством далее не отличалась от описанной выше. Составы ДЭ рассчитывались в зависимости от концентрации компонентов в каждой фазе, от соотношения фаз (M_1 , B, M_2) и концентрации ПИБ в M_2 . В качестве примера в таблице 30 приведен компонентный состав для ДЭ_{ФПИБ47}, для которой массовая доля внутренней дисперсной фазы (M_1) в первичной миниэмульсии (M_1/B) составляла 0.35, а массовая доля внешней дисперсионной среды (M_2) в ДЭ – 0.55.

Таблица 29. Межфазное натяжение (σ) на границе раздела фаз вода/гептан, моделирующей внешнюю межфазную границу (B/ M_2) двойных эмульсий на основе ПИБ, при 22°C

Граница раздела фаз	σ , мН/м
Вода/гептан	50±1
Водный раствор ГПЦ (10 масс. %)/гептан	12±0.5
Водный раствор Тв (5 масс. %)/гептан	5.2±0.5
Водный раствор ГПЦ (10 масс. %) и Тв (5 масс. %)/гептан	3.3±0.5
Вода/раствор ПИБ (35 масс. %) в гептане	48±1

Двойные эмульсии с фелодипином во внутренней дисперсной фазе использовали для создания полимерных матриц. Толщину нанесения ДЭ на гидрофобную подложку (силиконизированный полиэтилентерефталат, Loragex 7300A) варьировали от 375 до 625 мкм. Толщина пленок после сушки зависела от толщины нанесения и находилась в диапазоне 60–110 мкм. Полимерные матрицы были визуально прозрачными и хорошо приклеивались к коже.

Таблица 30. Состав двойной эмульсии ДЭ_{ФПИБ}47

Фаза ДЭ	Компонент	Концентрация в фазе, масс. %	Массовая доля фазы в ДЭ	Концентрация в ДЭ, масс. %
Фаза М ₁	Фелодипин	1.86	0.16	0.29
	ГМО	10.00		1.58
	Гептан	81.09		12.77
	Этанол	7.05		1.11
Фаза В	Вода	85.00	0.29	24.86
	ГПЦ	10.00		1.46
	Твин 80	5.00		2.93
Фаза М ₂	ПИБ	46.70	0.55	25.69
	гептан	53.30		29.32

Типичная морфология полимерной матрицы, полученной из ДЭ с фелодипином, представлена на рис. 89. Очевидно, что структура матрицы напоминает структуру двойной эмульсии (рис. 82), на основе которой она была получена. Матрица содержит микродомены, что позволяет отнести ее к микрорезервуарному типу.

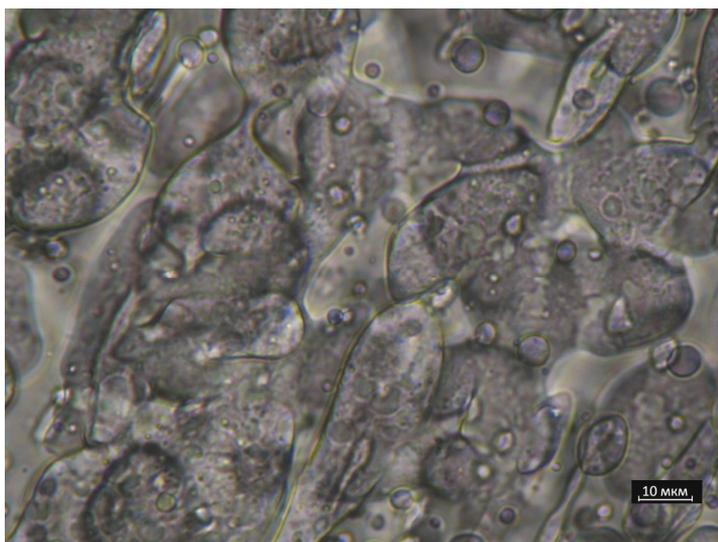


Рис. 89. Морфология пленки, сформированной на основе двойной эмульсии ДЭ_{ФПИБ}47 (оптическая микроскопия).

Содержание фелодипина в матрицах рассчитывали, исходя из плотности ДЭ, толщины нанесения и концентрации Φ в ДЭ. Очевидно, что регулируя толщину нанесения ДЭ, можно варьировать «загрузку» препарата. Например, для матрицы на основе ДЭ_{ФПИБ}47 ($\rho = 0.7713 \text{ г/см}^3$) при толщине нанесения 625 мкм (что соответствует 0.0625 см^3 эмульсии/ см^2) концентрация фелодипина составляет 141 мкг/см^2 . Кинетика высвобождения Лк из данной пленки представлена на рис. 90.

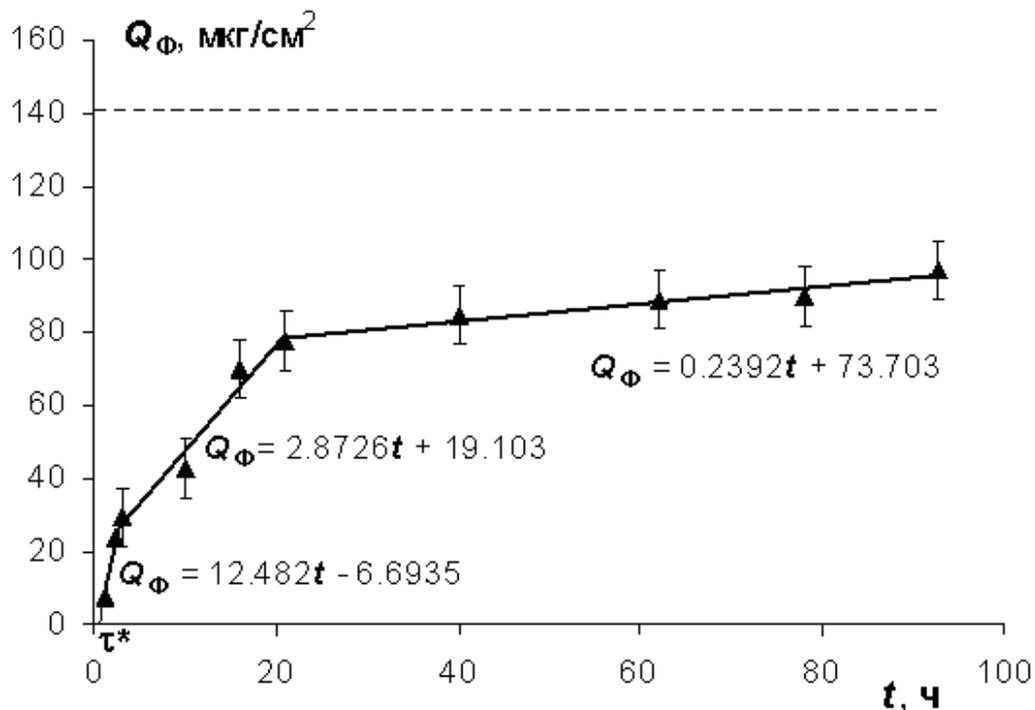


Рис. 90. Кинетика мембранного массопереноса фелодипина из пленки, полученной на основе ДЭ_{ФПИБ}47. Пунктирная линия соответствует исходному количеству Φ в пленке. Средний размер пор мембраны – 200 нм.

Видно (рис. 90), что выделение лекарства продолжается в течение нескольких суток, за время наблюдения выход фелодипина составил 86 %. На кинетической кривой $Q_{\Phi}(t)$ наблюдается незначительный период задержки ($\tau^* = 0.5 \text{ ч}$) и три линейных участка, каждый из которых характеризуется соответствующей постоянной скоростью выделения лекарства (рис. 90). Скорость (dQ_{Φ}/dt) составляет $12.48 \text{ мкг}/(\text{см}^2 \cdot \text{ч})$ за период от 0.5 до 3 ч, $2.87 \text{ мкг}/(\text{см}^2 \cdot \text{ч})$ в интервале 3–21 ч и $0.24 \text{ мкг}/(\text{см}^2 \cdot \text{ч})$ в следующие 3 суток. Следует отметить, что на первом этапе наблюдаемая скорость примерно в 4.5 раза превышает максимальное значение

целевой терапевтически обоснованной скорости, на втором этапе ей соответствует, а после 21 ч оказывается в 3 раза ниже минимального допустимого значения.

Таким образом, для полимерных матриц на основе ДЭ с фелодипином, инкорпорированным во внутреннюю дисперсную фазу M_1 , наблюдается гораздо более пролонгированное выделение Лк, нежели для матриц из обратных эмульсий, содержащих солюбилизированный фелодипин (рис. 90 и 71) [389, 390].

Пролонгированное высвобождение Φ из полимерной матрицы можно рассматривать как позитивный результат, однако нестационарный характер процесса необходимо корректировать. Поэтому была исследована возможность введения дополнительного количества Φ во внешнюю дисперсионную среду ДЭ. Состав ДЭ с фелодипином в фазах M_1 и M_2 , обозначенной как ДЭ_{ФПИБ}47д, приведен в табл. 31. Общая концентрация фелодипина в этой ДЭ равна 1.39 масс. %, ее плотность – 0.7765 г/см³, что позволяет рассчитать «загрузку» Φ в матрице (при толщине нанесения ДЭ, равной 625 мкм). Она составила 676 мкг/см².

Таблица 31. Состав двойной эмульсии ДЭ_{ФПИБ}47д

Фаза ДЭ	Компонент	Концентрация в фазе, масс. %	Концентрация в ДЭ, масс. %
Фаза M_1	Фелодипин	1.86	0.29
	ГМО	10.00	1.58
	Гептан	81.09	12.77
	Этанол	7.05	1.11
Фаза В	Вода	85.00	24.86
	ГПЦ	10.00	1.46
	Твин 80	5.00	2.93
Фаза M_2	ПИБ	45.80	25.17
	Гептан	52.20	28.73
	Фелодипин	2.00	1.10

Кинетика высвобождения фелодипина из ДЭ_{ФПИБ}47д представлена на рис. 91. Видно, что лекарство начинает выделяться сразу, в течение первых суток скорость выделения постоянна и в 2.4 раза превышает целевую (стр. 163), далее в течение 4-х суток скорость также постоянна и соответствует медицинским показаниям. За время наблюдения выход составил 40 %.

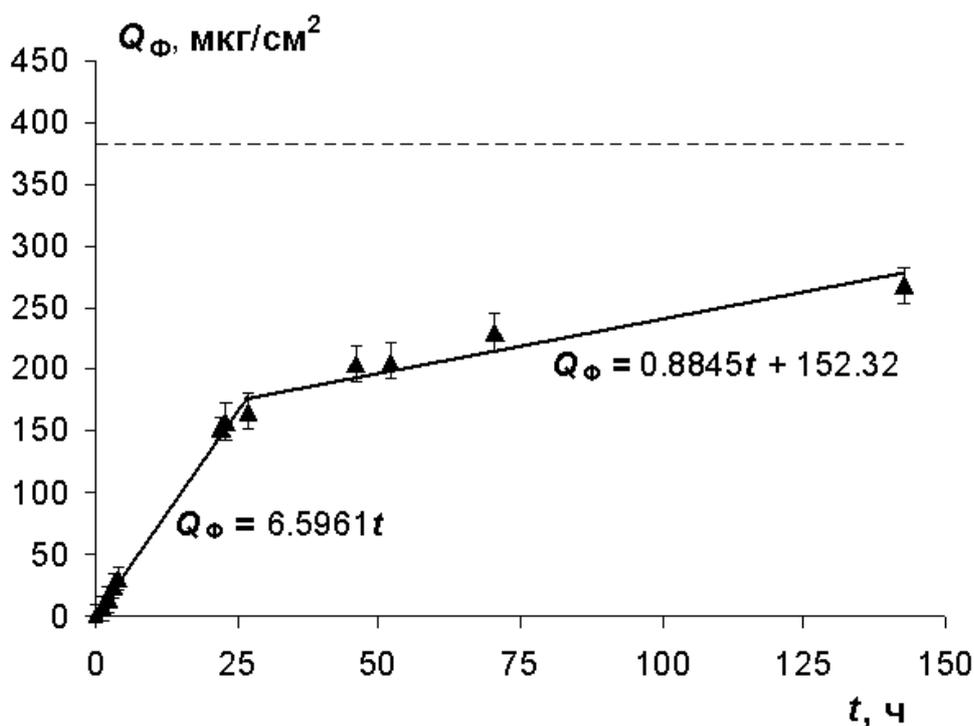


Рис. 91. Кинетика мембранного массопереноса фелодипина из полимерной матрицы на основе ДЭ_{ФПИБ}47д, содержащей фелодипин во внутренней дисперсной фазе и во внешней дисперсионной среде. Средний размер пор мембраны 220 нм.

Следует отметить, что сложная внутренняя структура двойных (множественных) эмульсий $M_1/V/M_2$ на основе растворов ПИБ в гептане открывает широкие возможности для регулирования свойств полимерных микрогетерогенных матриц на их основе за счет возможности иммобилизации липофильных поверхностно-активных Лк в каждой из фаз ДЭ, а также на ее межфазных границах (внутренней и внешней).

7.3.2. Двойные эмульсии $M_1/V/M_2$ на основе акрилового полимера и пленки для доставки амлодипина

Свежеприготовленные миниэмульсии M_1/V (с амлодипином или без него, см. главу 5) использовали для получения двойных эмульсий $M_1/V/M_2$, в качестве внешней дисперсионной среды которых были взяты растворы ДТ в этилацетате ($C_{ДТ} = 20, 35, 45$ и 60 масс. %). Были приготовлены двойные эмульсии ДЭ_{ДТ20}, ДЭ_{ДТ35}, ДЭ_{ДТ45}, ДЭ_{ДТ60}. и ДЭ_{АмДТ45}. Эмульсия ДЭ_{АмДТ45} содержала амлодипин. Во всех случаях массовая доля первичной эмульсии в двойной эмульсии $\varphi_{(M_1/V)}^{ДЭ}$ составляла 0.4.

Приготовленные эмульсии были молочно-белыми, их внешний вид не менялся в течение достаточно длительного времени (от ~ 10 ч до 7 суток). За меру седиментационной устойчивости принимали время до начала расслоения эмульсий, помещенных в градуированные пробирки, то есть, по появлению едва заметного слоя этилацетата на их поверхности. Седиментационная устойчивость возрастала с повышением концентрации ДТ в дисперсионной среде, что коррелирует с появлением аномалии вязкости и нарастанием вязкоупругих свойств растворов ДТ.

По данным ОМ (без применения покровного стекла) размеры частиц эмульсий находились в пределах 8–100 мкм и практически не изменялись в течение длительного времени. Так, например, наблюдаемая с помощью ОМ микроструктура ДЭ_{ДТ35} оставалась неизменной в течение 5 суток. При этом удавалось наблюдать капли микронных размеров, но не их внутреннюю структуру. Однако агрегативную устойчивость ДЭ можно исследовать и при помощи ОМ по методике, предложенной в работе [395], когда разрушение ДЭ промотирует наложение покровного стекла, смоченного растворителем. Считается [396], что данная методика позволяет исследовать устойчивость ДЭ в реальном времени.

В качестве параметра, характеризующего устойчивость ДЭ, нами было выбрано время (t_a) с момента наложения покровного стекла, по истечении которого удается фиксировать наличие внутренних капель ДЭ с помощью ОМ. Опыты повторяли 5–7 раз и рассчитывали среднее значение t_a . Предметное и покровное стекла предварительно смачивали основным компонентом внешней дисперсионной среды (этилацетатом). На рис. 92 представлена эволюция микроструктуры эмульсии ДЭ_{ДТ35}. В начальный момент данная эмульсия может быть ошибочно

классифицирована как простая (рис. 92 а), но уже через несколько минут удается наблюдать (рис. 92 б, в) морфологию, типичную для двойных эмульсий, когда видны и внутренние, и внешние капли [395, 396, 389, 390, 403, 404]. Для эмульсий ДЭ_{ДТ}45, ДЭ_{ДТ}60, и ДЭ_{АмДТ}45 были получены аналогичные результаты. Что же касается ДЭ_{ДТ}20, то уже в начальные моменты времени фиксируется характерная для ДЭ микроструктура (рис. 93 а, б).

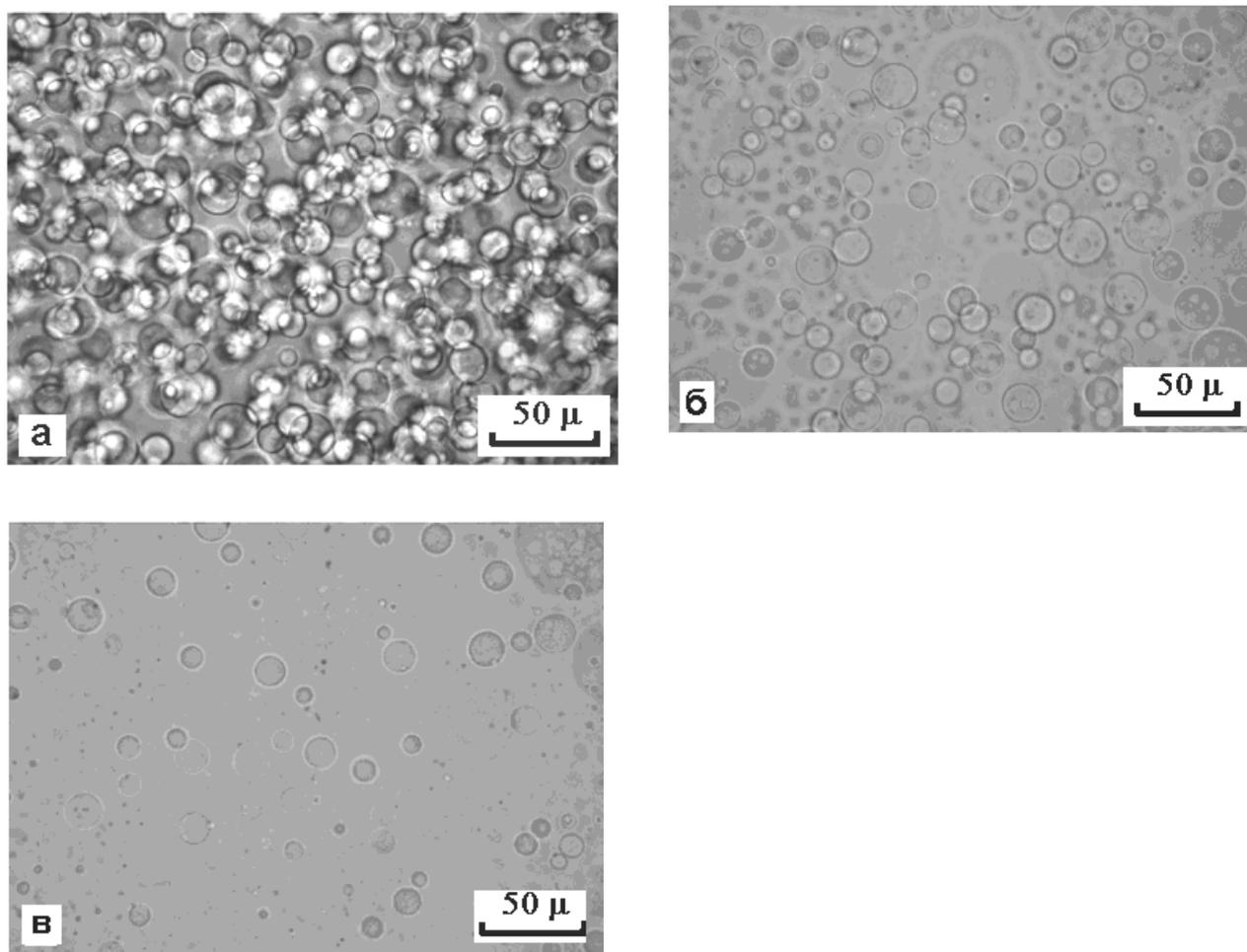


Рис. 92 (а, б, в). Эволюция во времени микроструктуры двойной эмульсии ДЭ_{ДТ}35 после наложения покровного стекла (ОМ): через 1 – (а), 4 – (б) и 8 мин (в).

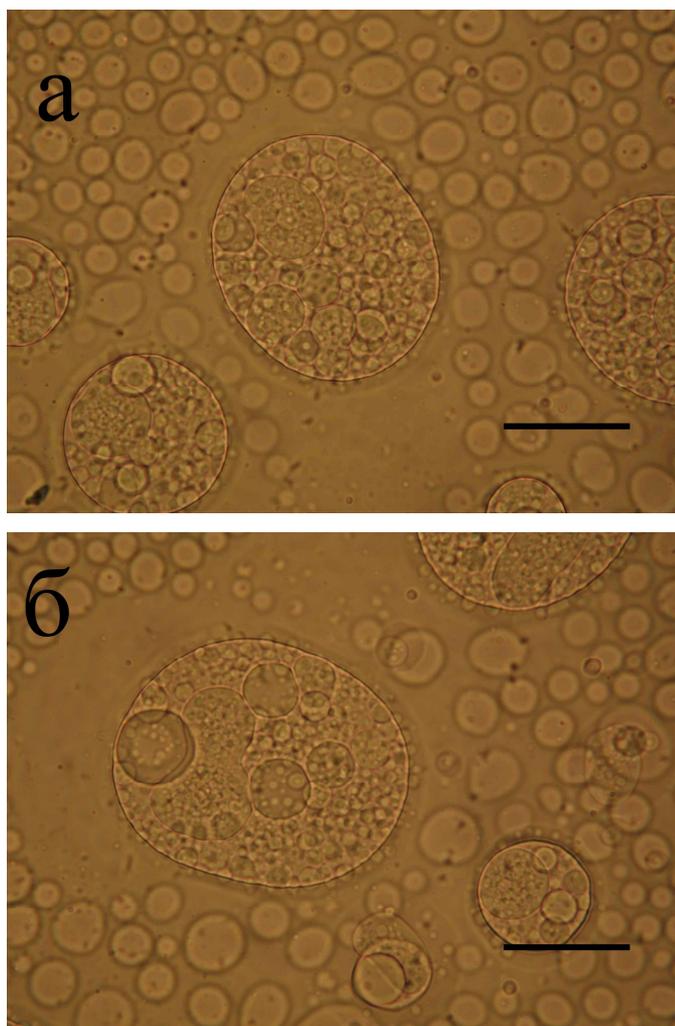


Рис. 93. Эволюция во времени микроструктуры двойной эмульсии ДЭ_{ДТ20} после наложения покровного стекла (ОМ): через 0.2 – (а) и 4 мин. – (б). Размер горизонтального отрезка соответствует 50 мкм.

Значения t_a для исследованных ДЭ приведены в табл. 32, из которой видно, что эти значения увеличиваются с ростом концентрации ДТ. Наименее стабильной оказалась ДЭ_{ДТ20}, дисперсионная среда которой является ньютоновской жидкостью. Таким образом, обнаружена корреляция между повышением стабильности ДЭ и ростом концентрации полимера во внешней дисперсионной среде. При этом присутствие амлодипина практически не влияет на стабильность ДЭ.

Таблица 32. Значения времени (t_a), по истечении которого с помощью ОМ фиксируется типичная для ДЭ морфология

Двойная эмульсия	t_a , мин
ДЭ _{ДТ} 20	0
ДЭ _{ДТ} 35	4
ДЭ _{ДТ} 45	5
ДЭ _{АМДТ} 45	> 5
ДЭ _{ДТ} 60	> 6

В табл. 33 приведены результаты тензиометрических измерений для границы раздела фаз вода/этилацетат, моделирующей внешнюю межфазную границу раздела двойных эмульсий. Видно (табл. 33), что в отличие от границы гептан/вода (см. табл. 29) в данном случае даже в отсутствие ПАВ наблюдается достаточно низкое межфазное натяжение (6.3 мН/м), что объясняется взаимной ориентацией диполей этилацетата и воды на межфазной границе. Из табл. 33 также видно, что присутствие ГПЦ и ДТ в пределах ошибок опыта не изменяет σ на границе вода/этилацетат, что свидетельствует об индифферентном поведении этих компонентов (отсутствии адсорбции). Адсорбция Твин 80 приводит к уменьшению межфазного натяжения на данной границе раздела лишь на несколько единиц мН/м (табл. 33), что, по-видимому, не может оказать принципиального влияния на стабильность исследованных двойных эмульсий. В связи с этим структурно-реологические свойства внешней дисперсионной среды ДЭ, приобретают первостепенное значение в обеспечении их агрегативной устойчивости.

Таблица 33. Межфазное натяжение (σ) на границе вода/этилацетат, моделирующей внешнюю межфазную границу ДЭ $M_1/V/M_2$, при 20°C

Граница раздела фаз	σ , мН/м
Вода/этилацетат	6.3±0.5*
Вода/раствор ДТ (35 масс. %) в этилацетате	6.3±0.5
Водный раствор ГПЦ (10 масс. %)/этилацетат	5.4±0.5
Водный раствор Твин 80 (5 масс. %)/этилацетат	1.8±0.5

*Значение σ для границы раздела вода/этилацетат при 25°C составляет 6.8 мН/м [405].

Для выяснения механизма устойчивости и особенностей микроструктуры полученных двойных эмульсий было проведено сопоставление реологических свойств ДЭ и их внешней дисперсионной среды (раствор ДТ в этилацетате соответствующей концентрации). Режимы и условия проведения реологических испытаний описаны выше (глава 6).

Рисунок 94, где приведены кривые вязкости для двойных эмульсий с ДТ, демонстрирует наличие аномалии вязкости во всех случаях, даже для ДЭ_{ДТ20}, дисперсионная среда которой является ньютоновской жидкостью (см. гл. 6). По-видимому, в данном случае слабо выраженная зависимость эффективной вязкости от скорости деформации может быть обусловлена деформацией капель дисперсной фазы и ориентационным эффектом. Важно подчеркнуть, что вязкость раствора Р_{ДТ20} в этилацетате оказалась примерно в 5 раз ниже вязкости водного раствора, содержащего 10 масс. % ГПЦ и 5 % Твин 80 ($\eta = 523.6$ мПа·с [406]). Таким образом, для двойной эмульсии ДЭ_{ДТ20} вязкость внешней дисперсионной среды оказалась ниже вязкости дисперсионной среды первичной прямой эмульсии (то есть водной прослойки), что, по-видимому, и является причиной нестабильности этой двойной эмульсии.

Для двойных эмульсий, в которых концентрация полимера во внешней дисперсионной среде равна или превышает 35 масс. %, аномалия вязкости ярко выражена (рис. 94). При этом значения эффективной вязкости ДЭ возрастают с увеличением концентрации полимера во внешней дисперсионной среде. Важно также отметить, что кривые вязкости для ДЭ_{ДТ45} и ДЭ_{АмДТ45} с амлодипином совпадают в пределах ошибок опыта (рис. 94), то есть инкорпорирование Лк в ДЭ не оказывает влияния. На этом же рисунке 94 для сравнения приведена кривая вязкости для раствора Р_{ДТ45}. Видно, что во всем исследованном интервале скоростей деформации значения эффективной вязкости для соответствующей эмульсии ДЭ_{ДТ45} заметно меньше. Аналогичную картину наблюдали и для эмульсий ДЭ_{ДТ45} и ДЭ_{ДТ60}, что, по-видимому, является следствием некоторого разупорядочения флуктуационно возникшей в дисперсионной среде сетки зацеплений между макромолекулами полимера при введении капель первичной эмульсии. Уменьшение вязкости ДЭ по сравнению с вязкостью ее внешней дисперсионной среды свидетельствует также об отсутствии флокуляции капель

дисперсной фазы в ДЭ. Это отличает ДЭ на основе растворов ДТ в этилацетате от ДЭ с растворами ПИБ в гептане, для которых наблюдается флокуляция капель дисперсной фазы. По-видимому, причиной является меньшие значения σ на внешней межфазной границе в первом случае (табл. 29 и 33).

В отличие от ДЭ_{ДТ20} для эмульсий ДЭ_{ДТ35}, ДЭ_{ДТ45} и ДЭ_{ДТ60} внешняя дисперсионная среда (раствор ДТ) оказалась гораздо более вязкой, нежели водная мембрана (см. гл. 6).

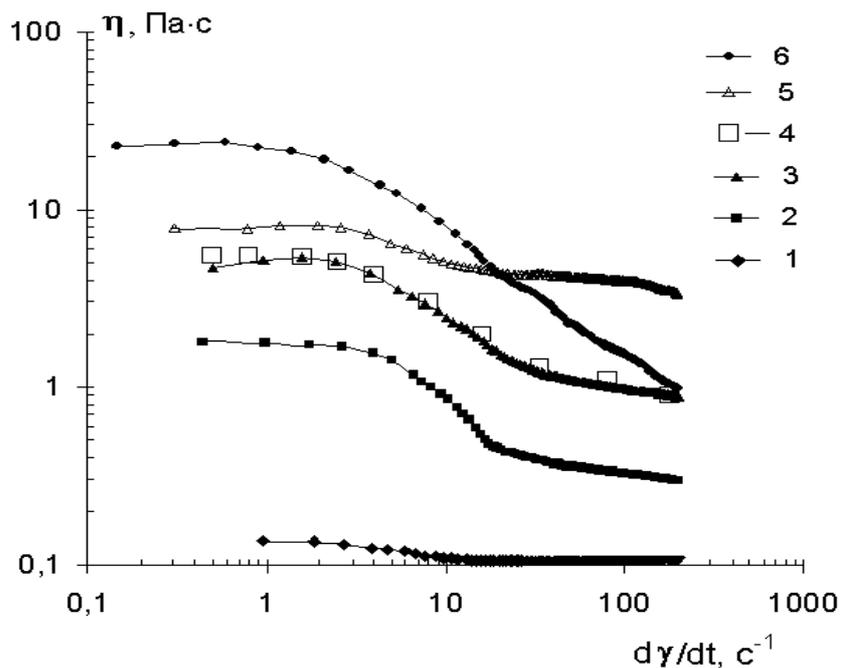


Рис. 94. Зависимости эффективной вязкости от скорости деформации для двойных эмульсий, содержащих различные концентрации ДТ в дисперсионной среде (1 – ДЭ_{ДТ20}, 2 – ДЭ_{ДТ35}, 3 – ДЭ_{ДТ45}, 4 – ДЭ_{АмДТ45}, 5 – ДЭ_{ДТ60}), и для раствора Р_{ДТ45} (6).

Следует отметить, что аномалия вязкости для эмульсий М/В/М наблюдалась в работах [401, 407, 408]. При этом в качестве дисперсной фазы первичных эмульсий, а также внешней дисперсионной среды использовалось высокоочищенное минеральное масло (Согена 32), вязкость которого примерно в 100 раз превышает вязкость гептана. Гидрофильным стабилизатором служил Тритон Х-100, а гидрофобным – Спан 80. Значения весовых долей дисперсной фазы в первичной и двойной эмульсиях всегда были одинаковы ($\varphi_M^{(M/B)} = \varphi_{(M/B)}^{ДЭ}$) и варьировались от 0.25 до 0.60. Показано [407, 408], что значения относительной

вязкости и диапазон ее изменений возрастают при повышении значений $\varphi_M^{(M/B)}$ и $\varphi_{(M/B)}^{DЭ}$, что авторы объяснили деформацией внешних капель ДЭ с последующей их ориентацией по направлению потока. Этот эффект наблюдается вследствие более высоких значений (примерно в 65 раз) вязкости внешней масляной дисперсионной среды по сравнению с вязкостью воды [407]. Кроме того, не исключена и флокуляция в ДЭ, приводящая к аномалии вязкости [407].

На рис. 95 приведены зависимости деформации от времени на стадиях ползучести и восстановления для ДЭ на основе высококонцентрированных растворов ДТ. Результаты для эмульсий ДЭ_{ДТ}45 и ДЭ_{АМДТ}45 совпали в пределах ошибок опыта, что подтверждает отсутствие влияния инкорпорированного Лк на реологическое поведение ДЭ. Из деформационных кривых $\gamma(t)$ (рис. 95) рассчитывались значения реологических параметров модели Бюргерса. Способ расчета описан выше (глава 6). Полученные для ДЭ параметры, наряду с данными для соответствующих им растворов ДТ, приведены в табл. 33. Показано, что модель Бюргерса хорошо описывает экспериментальные кривые, это свидетельствует о вязкоупругих свойствах исследованных ДЭ.

Видно (табл. 34), что как для ДЭ, так и для растворов значения G_0 , G_1 , η_1 , η_0 и λ_1 возрастают при увеличении концентрации полимера. При этом значения соответствующих параметров в случае растворов всегда выше, нежели для соответствующих двойных эмульсий. Двойные эмульсии, также как и высококонцентрированные растворы ДТ, проявляют высокую степень эластичности α (табл. 33).

На рис. 96 на примере эмульсии ДЭ_{ДТ}35 и соответствующего раствора Р_{ДТ}35 показаны типичные результаты динамических испытаний. Видно, что значения модулей накопления (G'), потерь (G'') и комплексной вязкости (η^*) выше в случае раствора. При этом во всех случаях вклад вязкости превышал вклад упругости ($G'' > G'$). С ростом концентрации ДТ значения G' , G'' , η^* возрастали и для растворов полимера, и для ДЭ.

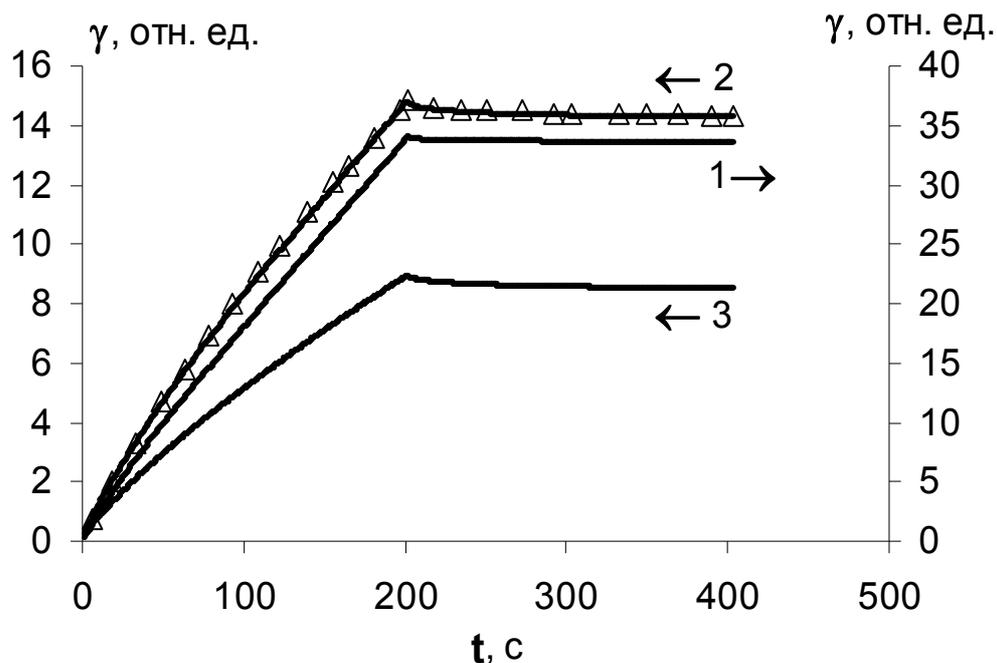


Рис. 95. Зависимости деформации от времени на стадиях ползучести и восстановления для двойных эмульсий с ДТ: 1 – ДЭ_{ДТ35}, 2 – ДЭ_{ДТ45} (сплошная линия, без Лк) и ДЭ_{АмДТ45} (символы, с Лк), 3 – ДЭ_{ДТ60}.

Таблица 34. Параметры модели Бюргера для двойных эмульсий и для соответствующих растворов ДТ в этилацетате, являющихся внешней дисперсионной средой этих ДЭ

Система	G_0 , Па	G_1 , Па	η_0 , Па·с	η_1 , Па·с	λ , с	α , %
ДЭ _{ДТ35}	4.8 ± 0.1	0.43 ± 0.01	6.4 ± 0.1	11.3 ± 0.1	26 ± 1	92 ± 1
Р _{ДТ35}	8.5 ± 0.1	0.24 ± 0.01	45 ± 0.5	8.7 ± 0.1	37 ± 1	97 ± 1
ДЭ _{ДТ45}	13.9 ± 0.2	0.45 ± 0.01	16.1 ± 0.2	16.5 ± 0.2	37 ± 1	97 ± 1
Р _{ДТ45}	19.7 ± 0.2	0.52 ± 0.01	102 ± 1	20.6 ± 0.2	40 ± 1	97 ± 1
ДЭ _{ДТ60}	19.8 ± 0.2	0.54 ± 0.01	28.6 ± 0.3	21.5 ± 0.2	40 ± 1	98 ± 1
Р _{ДТ60}	31.8 ± 0.3	0.58 ± 0.01	185 ± 2	28.7 ± 0.2	49 ± 1	98 ± 1

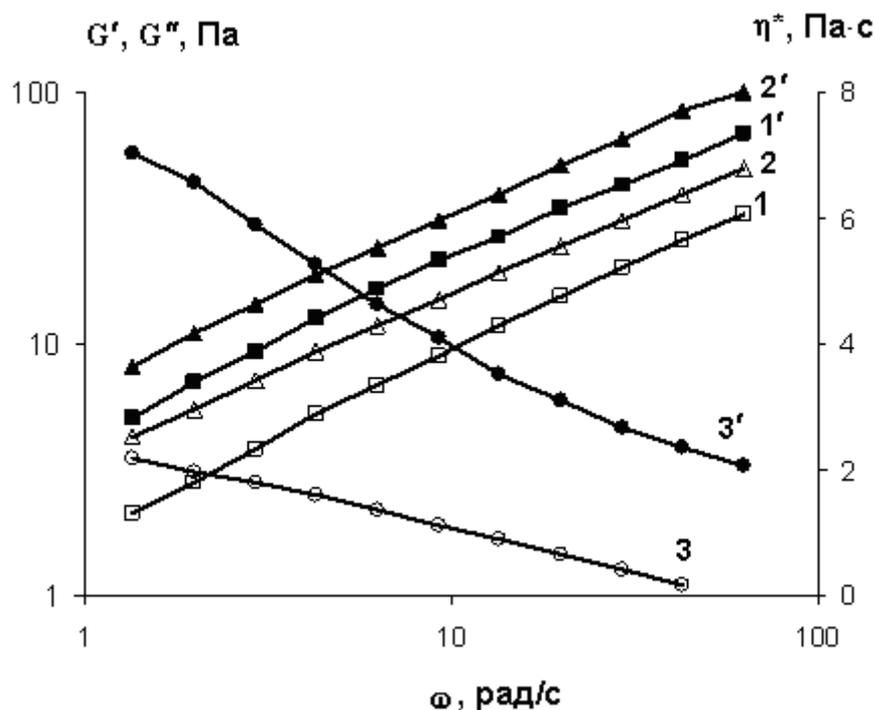


Рис. 96. Результаты динамических испытаний (при постоянной амплитуде колебаний напряжения сдвига $\tau_0 = 0.5$ Па и различных значениях угловой скорости ω) для эмульсии ДЭ_{ДТ}35 и раствора Р_{ДТ}35, являющего дисперсионной средой данной эмульсии: модуль накопления G' (1 – эмульсия, 1' – раствор), модуль потерь G'' (2 – эмульсия, 2' – раствор), комплексная вязкость η^* (3 – эмульсия, 3' – раствор).

На основе полученных данных можно заключить, что реологическое поведение двойных эмульсий с ДТ определяется свойствами внешней дисперсионной среды, при этом капли первичной эмульсии частично разрушают флуктуационную сетку зацеплений, образованную макромолекулами ДТ, разжижая дисперсную систему. Инкорпорирование амлодипина не оказывает влияния на реологическое поведение ДЭ. Двойные эмульсии на основе высококонцентрированных растворов ДТ являются вязкоупругими жидкостями, стабильность которых во многом зависит от реологических параметров внешней дисперсионной среды, возрастая с их увеличением.

При инкорпорировании амлодипина во внутреннюю дисперсную фазу было получено более 30 двойных эмульсий. Полимерные матрицы на их основе, как правило, в течение 48 ч демонстрировали постоянную скорость трансдермального массопереноса амлодипина. Пленки были визуальными прозрачными или слегка

опалесцирующими, обладали хорошей адгезией к коже. Состав эмульсии ДЭ_{АмДТ}45, как наиболее оптимальный, приведен в табл. 35. С учетом концентрации Лк в ДЭ, ее плотности (0.8606 г/см³) и толщины нанесения (625 мкм) рассчитано содержание амлодипина в матрице (1162 мкг/см²).

Таблица 35. Состав эмульсии ДЭ_{АмДТ}45₂ с амлодипином во внутренней дисперсной фазе

Фаза ДЭ	Компонент	Концентрация в фазе, масс. %	Массовая доля фазы в ДЭ	Концентрация в ДЭ, масс. %
Фаза М ₁	Амлодипин	12.0	0.18	2.16
	ГМО	8.0		1.44
	Гептан	64.0		11.52
	Этанол	16.0		2.88
Фаза В	Вода	85.0	0.27	22.95
	ГПЦ	10.0		2.70
	Твин 80	5.0		1.35
Фаза М ₂	ДТ	46.7	0.55	24.64
	этилацетат	53.3		30.36

Внутренняя структура полимерных матриц, содержащих амлодипин, оказалась практически тождественной структуре двойных эмульсий. Типичный пример – пленка на основе эмульсии ДЭ_{АмДТ}45₂ (рис. 97). Кинетика трансдермального массопереноса амлодипина для данной полимерной матрицы представлена на рис. 98. Лекарство поступает с постоянной скоростью 6.2 мкг/(см²·ч), которая, однако, едва дотягивает до минимального терапевтически обоснованного значения (см. стр. 166). За 48 ч выход Лк составил примерно 22 %. Следует отметить, что в полимерных матрицах на основе ДЭ, в которые амлодипин был введен во внутреннюю дисперсную фазу, не наблюдалось кристаллизации лекарства.

Скорость трансдермального массопереноса может быть увеличена за счет дополнительного введения амлодипина во внешнюю дисперсионную среду ДЭ. Среди множества композиций наилучший результат был получен для двойной

эмульсии ДЭ_{АмДТ}45₃, состав которой приведен в табл. 36. Суммарная концентрация Ам в этой ДЭ составила 3.81 масс. %.

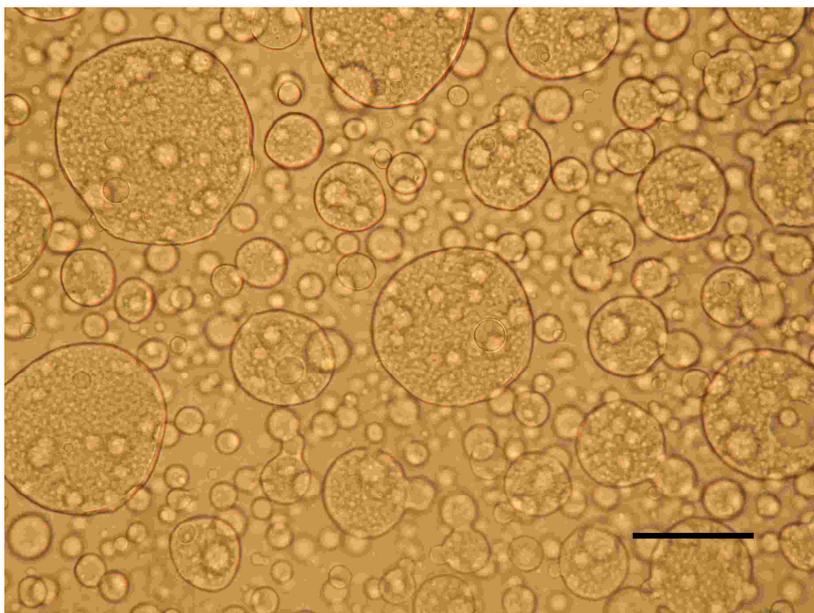


Рис. 97. Микрофотография полимерной матрицы на основе ДЭ_{АмДТ}45₂ (ОМ). Размер горизонтальной линии соответствует 100 мкм.

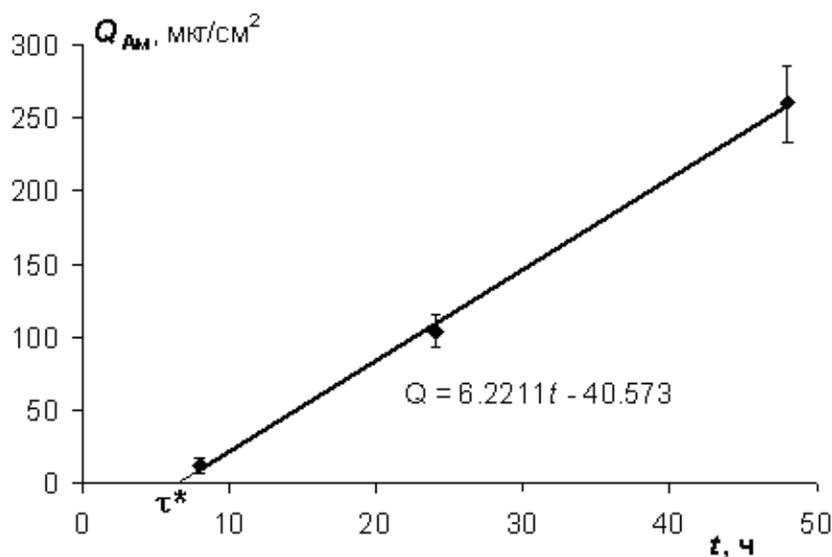


Рис. 98. Кинетика трансдермального массопереноса Ам из полимерной матрицы на основе двойной эмульсии ДЭ_{АмДТ}45₂. Кожа со средней проницаемостью (3.3 мкг/(см²·ч) для окситрола).

Микрофотография полимерной матрицы на основе эмульсии ДЭ_{АмДТ}45₃ приведена на рис. 99. При сравнении рис. 97 и 98 видно, что матрица на основе эмульсии ДЭ_{АмДТ}45₃ более тонкодисперсная (рис. 98), нежели матрица из эмульсии

ДЭ_{АмДТ45₂}. Таким образом, амлодипин, присутствующий во внешней дисперсионной среде эмульсии ДЭ_{АмДТ45₃}, оказывает дополнительное стабилизирующее действие. Также видно (рис. 97 и 99), что морфология матриц соответствует структуре ДЭ.

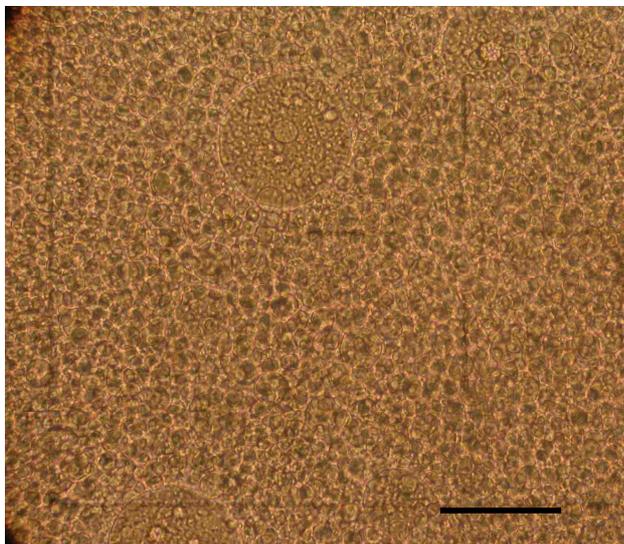


Рис. 99. Микрофотография полимерной матрицы на основе двойной эмульсии ДЭ_{АмДТ45₃} через 20 суток хранения в запаянном фольгированном пакете при комнатной температуре. Размер горизонтального отрезка соответствует 100 мкм (ОМ).

Важным преимуществом разработанных полимерных матриц является отсутствие кристаллизации амлодипина даже в условиях хранения. Например, в пленке на основе ДЭ_{АмДТ45₃}, содержащей 3.81 масс. % Ам (табл. 36), через 20 суток хранения в запаянном фольгированном пакете (при комнатной температуре) нет кристаллов лекарства (рис. 99, данные ОМ). По истечении 2-х лет хранения в полимерных матрицах с помощью сканирующей электронной микроскопии удается зафиксировать наличие наночастиц Ам, размер которых варьируется от 10 до 200 нм (рис. 100). При этом пленки сохраняют свой первоначальный внешний вид. Вместе с тем, при инкорпорировании Ам в раствор полимера Р_{ДТ45} даже при меньшей концентрации ($C_{\text{Ам}} = 1.95$ масс. %) в полимерной матрице на основе этого раствора кристаллы лекарства появляются уже через 3 ч (рис. 101 а, б). При хранении размеры кристаллов растут, их количество увеличивается (рис. 101 в, г). На рис. 101г видно, что размеры кристалликов Ам через 30 суток превышают 200

мкм. Как известно, кристаллизации Лк в ТДС может приводить к утрате целевых качеств (см. гл. 1).

Таблица 36. Состав эмульсии ДЭ_{АмДТ}45₃ с амлодипином во внутренней дисперсной фазе и внешней дисперсионной среде

Фаза ДЭ	Компонент	Концентрация в фазе, масс. %	Концентрация в ДЭ, масс. %
Фаза М ₁	Амлодипин	12.0	2.16
	ГМО	8.0	1.44
	Гептан	64.0	11.52
	Этанол	16.0	2.88
Фаза В	Вода	85.0	22.95
	ГПЦ	10.0	2.70
	Твин 80	5.0	1.35
Фаза М ₂	ДТ	43.5	23.90
	Этилацетат	53.5	29.45
	Амлодипин	3.0	1.65

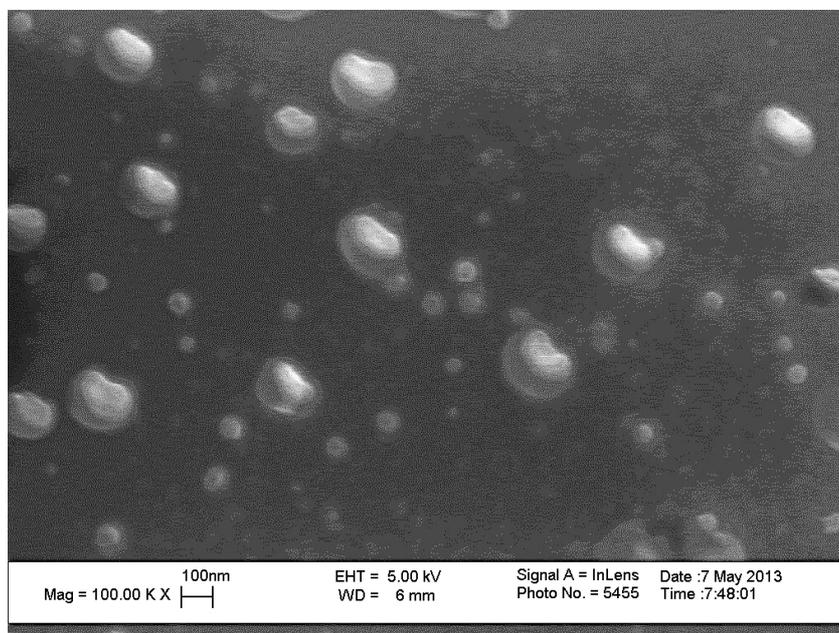


Рис. 100. Микрофотография полимерной матрицы на основе двойной эмульсии ДЭ_{АмДТ}45₃ после хранения в течение 2-х лет в запаянном фольгированном пакете (при комнатной температуре). Данные СЭМ.

Следует отметить, что варьирование толщины нанесения также позволяет регулировать концентрацию Лк в матрице при постоянном составе базовой эмульсии. Влияние толщины нанесения на скорость трансдермального массопереноса амлодипина было изучено на примере матриц, базисом которых послужила ДЭ_{АмДТ}45₃ (см. рис.102). Характеристики пленок различной толщины, в том числе и параметры трансдермального массопереноса амлодипина, приведены в табл. 37.

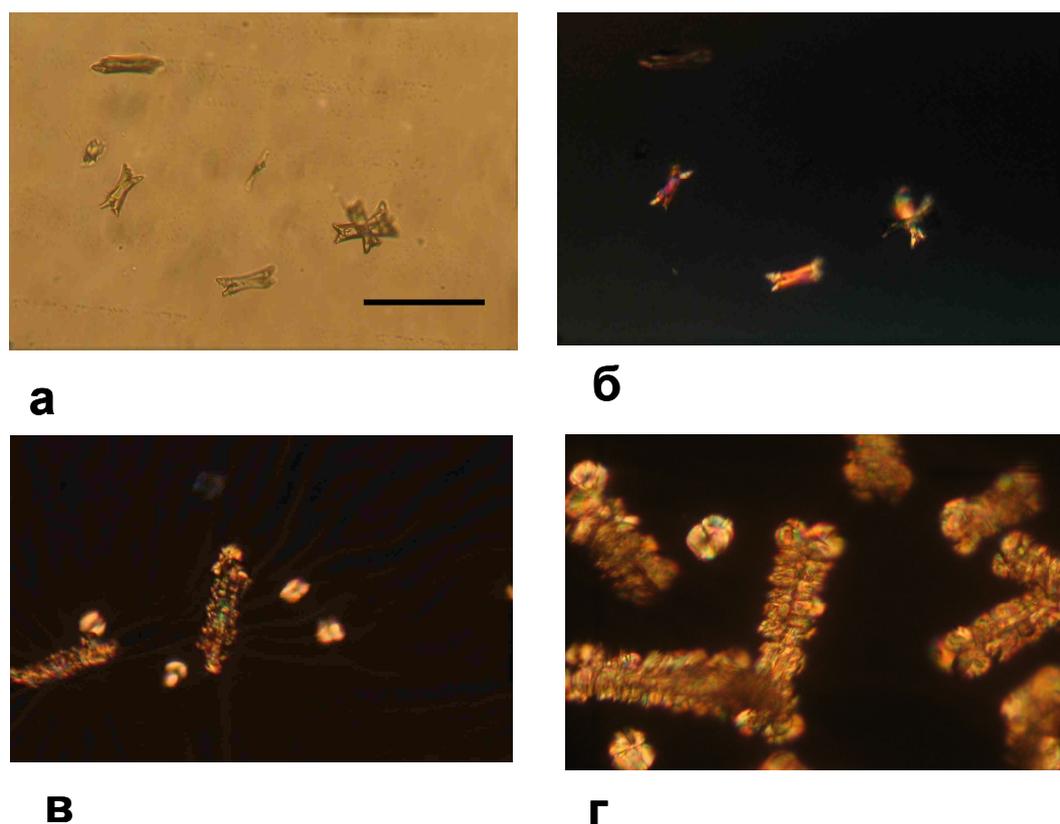


Рис. 101. Микрофотографии полимерной матрицы на основе раствора ДТ и амлодипина в этилацетате ($C_{ДТ} = 44.8$ и $C_{Ам} = 1.95$ масс. %), полученные с помощью ОМ в неполяризованном (а) и поляризованном (б, в, г) свете через различные промежутки времени: 3 часа (а, б), 11 (в) и 30 (г) суток. Размер горизонтального отрезка соответствует 100 мкм. Данные ОМ.

Рис. 102 и табл. 37 свидетельствуют о пролонгированном выделении Ам во всех случаях (7 суток). Причем увеличение толщины пленки и, соответственно концентрации в ней Лк (см. табл. 37), сопровождается возрастанием времени (с 6 до 7 суток), в течение которого наблюдается постоянная скорость трансдермального переноса амлодипина. Значения $dQ_{Ам}/dt$ также немного возрастают при увеличении толщины пленки и во всех случаях близки к

максимальной целевой скорости выделения Ам (12.5 мкг/(см²·ч)). Типичный внешний вид разработанных ТП представлен на рис. 103. При длительном хранении полимерных матриц (185 сут.) параметры, характеризующие трансдермальную доставку Ам, совпадали с точностью ± 10%.

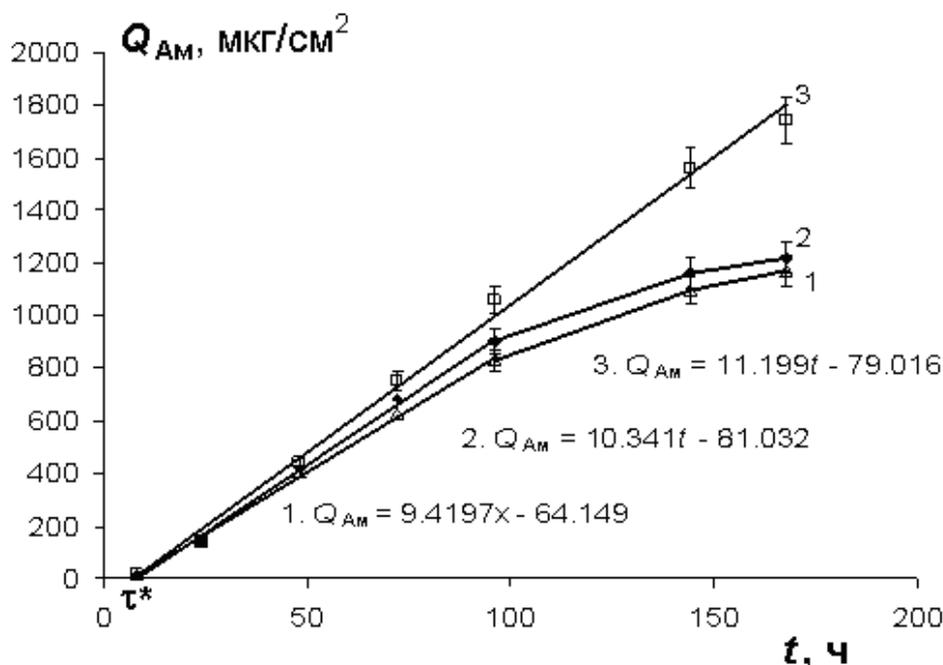


Рис. 102. Зависимость от времени количества амлодипина, выделившегося из полимерных матриц различной толщины на основе эмульсии ДЭ_{АмДТ}45_з и прошедшего через кожу человека (in vitro): 1 – ДЭ_{АмДТ}45_{зА}, 2 – ДЭ_{АмДТ}45_{зБ}, и 3 – ДЭ_{АмДТ}45_{зС}. Характеристики пленок приведены в табл. 37. Кожа средней проницаемости (скорость для окситрола – 2.3 мкг/(см²·ч)).

Таблица 37. Параметры трансдермального массопереноса амлодипина из полимерных матриц различной толщины на основе эмульсии ДЭ_{АмДТ}45_з

Характеристика	ДЭ _{АмДТ} 45 _{зА}	ДЭ _{АмДТ} 45 _{зБ}	ДЭ _{АмДТ} 45 _{зС}
h _{дэ} , мкм	625	750	1375
h, мкм	121	144	286
C _{Ам} , мкг/см ²	2035±20	2440±20	4480±40
τ*, ч	6.8	7.8	7.0
dQ/dt, мкг/(см ² ·ч)	9.4±0.5 (в течение 96 ч)	10.3±0.5 (в течение 96 ч)	11.2±0.5 (в течение 166 ч)
Выход Ам, %	40 (за 96 ч)	37 (за 96 ч)	39 (за 168 ч)

Концентрация Ам в пленке – C_{Ам}.

Таким образом, в рамках предлагаемой концепции двойных эмульсий $M_1/V/M_2$, содержащих обязательные компоненты ТДС, разработаны ультрамикроретерогенные полимерные матрицы (визуально прозрачные или слегка опалесцирующие), отличительной особенностью которых является совмещение микродоменов различной полярности с обширными межфазными границами, способными иммобилизовать липофильные лекарства, обладающие поверхностной активностью. Это обеспечивает повышенный химический потенциал Лк и эффективную пролонгированную трансдермальную доставку [389, 390].

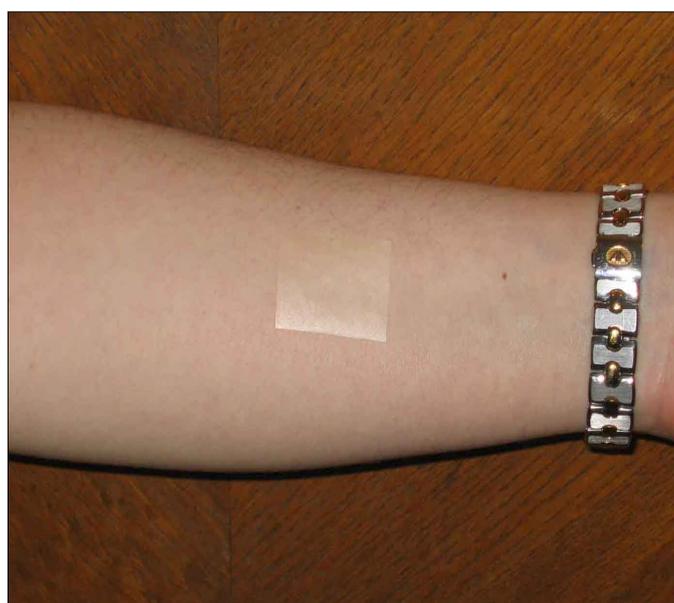


Рис. 103. Внешний вид разработанного трансдермального пластыря на основе ДЭ.

Глава 8. БАКТЕРИЦИДНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МАТРИЦЫ С ГИДРОФИЛЬНЫМ БЕЛКОМ ЛИЗОЦИМОМ НА ОСНОВЕ ЭМУЛЬСИЙ

Белки играют ключевую роль в жизненно важных биологических процессах, что определяет растущий интерес к применению их в качестве лекарственных препаратов. Технологии производства пептидов и белков, достигли в последнее время впечатляющих успехов, чего нельзя сказать о развитии систем доставки этих соединений с контролируемой и терапевтически обоснованной скоростью [409]. Поэтому важной задачей становится разработка систем, способных включать белки с запрограммированным их высвобождением в физиологических условиях. К таким системам, прежде всего, относятся эмульсии, микроэмульсии, гели и пленки. Особый интерес представляют полимерные адгезивные пленки – носители активного компонента, которые являются главной составной частью (матрицей) трансдермальных терапевтических средств [410, 79].

Задача создания пленочных материалов медицинского назначения с иммобилизованным Лк природного происхождения во многом осложняется тем, что большинство ферментов не выдерживает нагревания выше 60°C. Поэтому способы получения, включающие нагревание, такие как, например, метод экструзии полимеров через стадию расплава [89], в данном случае непригодны. Пленки, полученные из растворов соответствующих полимеров, могут включать компоненты растворимые в данном растворителе (либо гидрофильные, либо гидрофобные). Вместе с тем, необходимые ингредиенты трансдермальных композиций (усилители проницаемости кожи, лекарства и т. д.), как правило, имеют различную полярность. На наш взгляд, весьма перспективным может оказаться подход, основанный на получении тонкодисперсных эмульсий, содержащих компоненты различной полярности (полимеры, ПАВ, лекарства, ферменты), с последующим формированием ультрадисперсных многокомпонентных пленочных материалов при температурах, гарантирующих сохранение свойств лекарственных и ферментативных препаратов.

Термодинамически неустойчивые эмульсии, которые в определенных условиях способны сохранять исходное распределение частиц по размерам в течение продолжительного времени, всегда являются многокомпонентными. В

процессе получения таких систем в результате межмолекулярных взаимодействий и интенсивного массопереноса изменяются составы и свойства жидких фаз, подвижность и структура стабилизирующих межфазных слоев [411, 119]. Варьирование состава и соотношения полярной и неполярной фаз позволяет получать эмульсии прямые, обратные и двойные (М/В/М и В/М/В [412, 114]), т.е. изменять свойства композиций в широких пределах. Это открывает перспективы для создания на основе эмульсий многокомпонентных пленок, обладающих целевыми свойствами и, в частности, способных играть роль носителя терапевтически важных белков.

В работе изучена возможность использования прямых многокомпонентных эмульсий для получения пленочных материалов – носителей глобулярного белка лизоцима (Лз), обладающего бактерицидным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием [413]. Эмульсии содержали гидрофобный и гидрофильный полимеры, обладающие пленкообразующими свойствами, НПАВ в качестве стабилизаторов (и иногда усилителей проницаемости кожи), а также лизоцим. Исследованы свойства эмульсий (устойчивость, размер частиц, структурно-реологические и пленкообразующие свойства), морфология приготовленных из них пленок и кинетика выделения лизоцима в водную фазу. Особое внимание уделено исследованию ферментативной активности лизоцима, высвобождающего из многокомпонентных полимерных пленок. Следует отметить, что поскольку масса молекул лизоцима почти в 3 раза превышает 500 Да, что является предельной молекулярной массой веществ, пригодных для трансдермальной доставки за счет пассивной диффузии (см. гл. 1), то есть в данном случае речь идет о бактерицидном и противовоспалительном действии на поверхности кожного покрова.

8.1. Прямые эмульсии и полимерные матрицы с лизоцимом

В работе при ультразвуковом диспергировании из заранее приготовленных растворов было получено более 50 эмульсий. В качестве полярной фазы эмульсий использовали водные растворы ГПЦ, содержащие НПАВ, а в ряде случаев и лизоцим. В качестве масляной фазы – растворы СИС в толуоле (или в циклогексане), также иногда содержащие НПАВ. Массовая доля масляной фазы в

эмульсии ($\phi_m = W_M/W_{Эм}$, где W_M и $W_{Эм}$ – соответственно масса масляной фазы и эмульсии) варьировалась в пределах 0.2 – 0.5.

Показано, что эмульсии являлись прямыми (М/В), поскольку достаточно хорошо смешивались с водой и практически не смешивались с толуолом или с циклогексаном. Агрегативная и седиментационная устойчивость эмульсий зависела от их состава. Эмульсии, стабилизированные НПАВ (без полимеров), были достаточно стабильными, но не обладали способностью формировать пленки. Несмотря на то, что оба полимера являются поверхностно-активными на границе раздела вода/масло, эмульсии, стабилизированные адсорбционными слоями СИС+ГПЦ (в отсутствие НПАВ), были крайне нестабильны и быстро разрушались. Сочетание НПАВ + СИС (без ГПЦ) позволяло получить эмульсии, стабильные в течение 2-х суток. Наилучшие результаты были получены для эмульгирующих композиций НПАВ+СИС+ГПЦ.

Для дальнейших исследований были выбраны наиболее устойчивые (от 2 недель) эмульсии. Показано, что эти эмульсии были тонкодисперсными (d капель составлял 80 – 400 нм). Массовая доля дисперсной фазы составляла 0.31 или 0.47. Они содержали в водной фазе 2–10 масс. % ГПЦ, 2–10 % Твин 80, 0–3% лизоцима, а в масляной фазе (толуоле) – 2–10 % СИС и 1.3–5% НПАВ (Твин 80 или Бридж 30). Анализ влияния композиционного состава эмульсий на их стабильность позволяет заключить, что она обеспечивается смешанными адсорбционными слоями, состоящими из НПАВ, гидрофильного и гидрофобного полимеров. Добавка лизоцима не ухудшала стабильность эмульсий.

Обозначения и составы эмульсий, свойства которых обсуждаются далее, приведены в табл. 38. Прежде всего, необходимо было исследовать реологические свойства содержащих НПАВ растворов ГПЦ в воде и СИС в толуоле, которые соответственно являются дисперсионной средой и дисперсной фазой эмульсий. Важно подчеркнуть, что объемная доля полимера для всех исследованных растворов полимеров не превышает 0.3, что позволяет классифицировать их, как умеренно концентрированные [380]. Как показали испытания в режиме стационарного течения, исследованные растворы полимеров (в присутствии НПАВ и без добавок) проявляли ньютоновское поведение, характеризующееся линейной зависимостью напряжения сдвига от скорости деформации (глава 6). В

соответствии с уравнением Ньютона ($\tau = \eta \cdot d\gamma/dt$) вязкость растворов была постоянной и рассчитывалась как тангенс угла наклона линейной зависимости τ от $d\gamma/dt$, исходящей из начала координат. В табл. 39 в качестве примера представлены значения η растворов ГПЦ и СИС различных концентраций при разных концентрациях Твин 80. Видно, что при одинаковой концентрации полимера водные растворы ГПЦ имеют более высокие значения вязкости, нежели растворы СИС (табл. 39). Для обоих полимеров с увеличением их концентрации в растворе наблюдался рост вязкости, гораздо более заметный в случае ГПЦ. При этом концентрация Твин 80 (в исследованном интервале) оказывала незначительное влияние на величину вязкости.

Таблица 38. Обозначения эмульсий М/В, их состав и массовая доля дисперсной фазы (ϕ_m)

Обозначение эмульсии	Дисперсная фаза (растворы в толуоле)	Дисперсионная среда (растворы в воде)	ϕ_m
Эм1Лз	2% СИС+ 3% Тв	8.2% ГПЦ+ 5.4% Тв+ 2.7% Лз	0.31*
Эм2	3% СИС+ 3% Тв	5% ГПЦ+ 5% Тв	0.31
Эм2Лз	3% СИС+ 3% Тв	5% ГПЦ + 5% Тв + 2% Лз	0.31
Эм3	5% СИС+ 3% Тв	5% ГПЦ+ 5% Тв	0.31
Эм4	5% СИС+ 4.2% Бр	10% ГПЦ+ 5% Тв	0.31
Эм4Лз	5% СИС+ 4.2% Бр	10% ГПЦ+ 5% Тв + 2% Лз	0.31
Эм5	5% СИС+ 3 % Тв	10% ГПЦ+ 5% Тв	0.31
Эм6	10% СИС+ 5 % Тв	10% ГПЦ+ 5% Тв	0.47*
Эм7	2% СИС+ 3% Тв	10% ГПЦ + 6.6% Тв	0.31
Эм8	10% СИС+ 5 % Бр	10% ГПЦ+ 5% Тв	0.47
Эм8Лз	10% СИС+ 5 % Бр	10% ГПЦ+ 5% Тв + 3% Лз	0.47

* Объемная доля масляной фазы в эмульсиях составляла 0.33 или 0.50.

Таблица 39. Вязкость растворов ГПЦ в воде и СИС в толуоле при различных концентрациях Твин 80 (20°C)

С _{ГПЦ} , масс. %	С _{ТВ} , масс. %			
	0	1	3	5
	η, мПа·с			
2	5.8	6.1	6.8	7.7
5	40.4	42.2	46.7	64.5
10	406.3	429.8	476.7	523.6
С _{СИС} , масс. %	η, мПа·с			
5	7.6	7.7	8.0	8.2
10	43.3	44.0	45.1	46.3

Известно, что реологическое поведение эмульсий во многом определяется концентрацией частиц дисперсной фазы [414–420]. Разбавленные эмульсии характеризуются отсутствием взаимодействия между каплями и взаимного их влияния в процессе движения, очень низкой объемной долей дисперсной фазы ($\phi \leq 0.001$), постоянной вязкостью и линейной зависимостью $\eta(\phi)$, для описания которой, наряду с известным уравнением Эйнштейна [417], предлагаются различные уравнения [421, 422]. В концентрированных эмульсиях содержание дисперсной фазы может варьироваться в широком диапазоне ($\sim 0.01 < \phi < 0.71-0.75$), вплоть до предельно плотной упаковки капель без изменения их сферической формы [419]. В зависимости от величины ϕ такие эмульсии могут иметь постоянную вязкость (ньютоновское поведение), либо обнаруживать ярко выраженную аномалию, когда величина эффективной вязкости зависит от скорости деформации и изменяется в пределах нескольких порядков, что обусловлено взаимодействием между частицами дисперсной фазы [416, 419, 423]. Увеличение степени дисперсности эмульсий приводит к заметному возрастанию эффективной вязкости [416, 423], особенно при повышенных значениях объемной доли дисперсной фазы ($0.60 < \phi < 0.72$). Все исследованные нами эмульсии (ϕ от 0.2 до 0.5) относятся к концентрированным.

На рис. 104 и 105 соответственно приведены кривые течения и вязкости для ряда эмульсий, составы которых представлены в табл. 38. Для других эмульсий получены аналогичные результаты. Эффективная вязкость эмульсий заметно превышала вязкость дисперсионной среды, при этом ее значения уменьшались более чем в 200 раз с ростом скорости деформации (рис. 105). Таким образом, исследованные нами концентрированные эмульсии, проявляли аномальное поведение, несмотря на то, что растворы, из которых эти эмульсии были получены, являлись ньютоновскими жидкостями. Это хорошо согласуется с литературными данными о нелинейном реологическом поведении эмульсий при ньютоновском поведении исходных растворов ПАВ [424–426]. Ярко выраженная аномалия вязкости свидетельствует о структурообразовании в исследованных эмульсиях, то есть смешанные адсорбционные слои обеспечивают стабилизацию капель относительно коалесценции, но не коагуляции [109]. Следует отметить, что структурообразование в эмульсиях также называют флокуляцией [426].

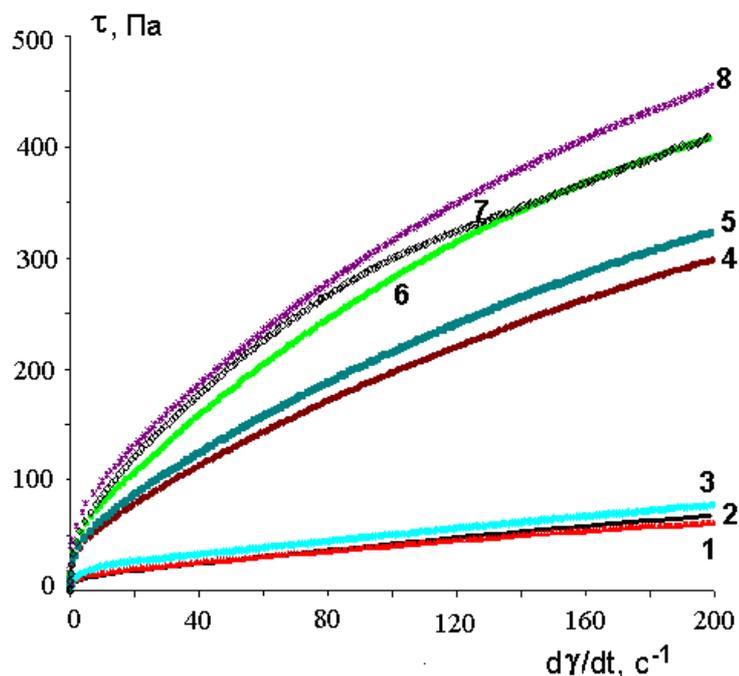


Рис. 104. Кривые течения прямых эмульсий: 1 – Эм2, 2 – Эм3, 3 – Эм2Лз, 4 – Эм4, 5 – Эм4Лз, 6 – Эм5, 7 – Эм6, 8 – Эм7. Составы эмульсий приведены в табл. 38.

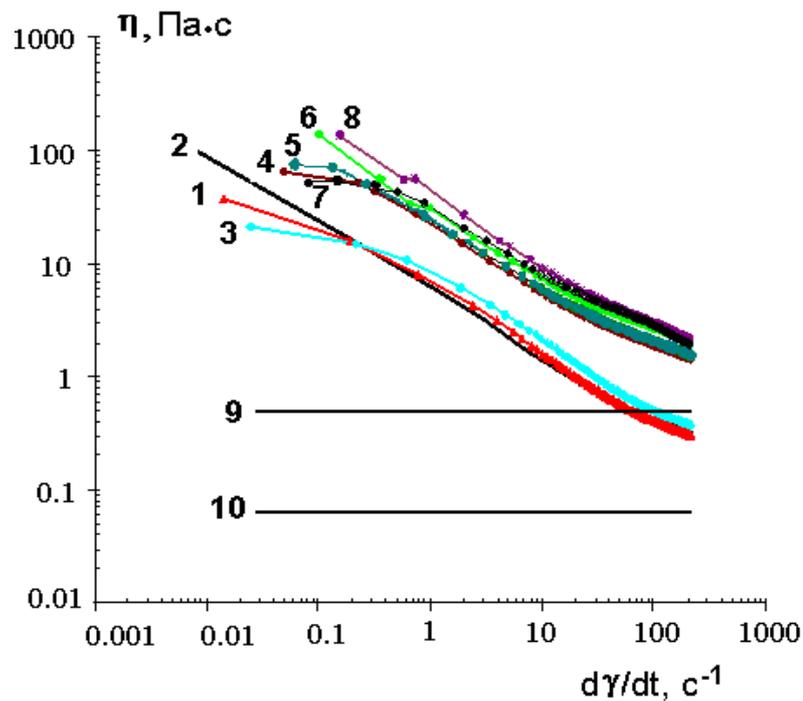


Рис. 105. Зависимости эффективной вязкости прямых эмульсий от скорости деформации: 1 – Эм2, 2 – Эм3, 3 – Эм2Лз, 4 – Эм4, 5 – Эм4Лз, 6 – Эм5, 7 – Эм6, 8 – Эм7. Вязкость дисперсионной среды эмульсий – водного раствора ГПЦ с 5 масс. % Твин 80: $C_{\text{ГПЦ}} = 10$ (9), 5 масс. % (10).

На рис. 105 видно, что значения эффективной вязкости достаточно близки для эмульсий Эм4–Эм7, содержащих 10 масс. % ГПЦ в дисперсионной среде, и заметно ниже для Эм2, Эм2Лз и Эм3, водная фаза которых содержит в 2 раза меньшую концентрацию ГПЦ. Представленные данные позволяют заключить, что реологические свойства исследованных эмульсий в основном зависят от концентрации гидрофильного полимера в дисперсионной среде, тогда как концентрации других компонентов и величина ϕ_m (в интервале значений 0.31–0.47) оказывают незначительное влияние.

При сравнении данных для эмульсий, состав которых различается лишь наличием или отсутствием лизоцима (Эм2, Эм2Лз и Эм4, Эм4Лз – табл. 38) видно (рис. 105), что Лз несколько увеличивает эффективную вязкость. Вероятно, белок активизирует структурообразование, то есть является флокулянтom исследованных эмульсий.

Рисунок 106, на котором представлены кривые вязкости для Эм3 при различных значениях времени с момента приготовления эмульсии, демонстрирует

возрастание эффективной вязкости с течением времени. Это типичные для исследованных эмульсий результаты, подтверждающие упрочнение структуры, сформированной частицами дисперсной фазы. Это хорошо согласуется с выводами работы [427], в которой показано нарастание с течением времени прочности стабилизированных желатиной концентрированных прямых эмульсий бензола, что авторы объясняют либо увеличением числа структурирующих контактов, либо нарастанием прочности индивидуального контакта.

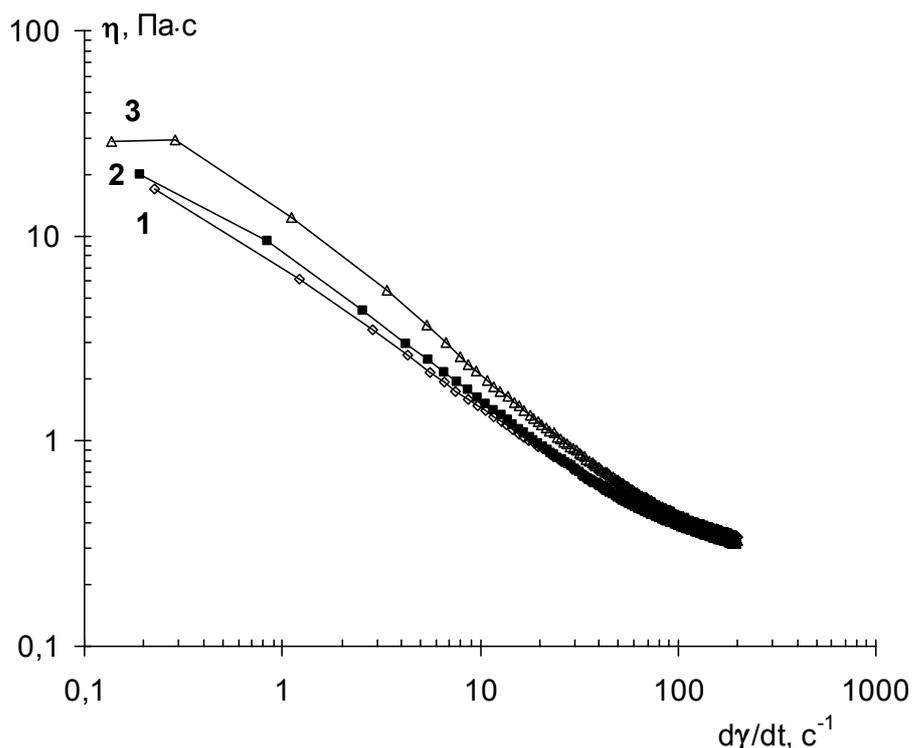


Рис. 106. Зависимости эффективной вязкости от скорости деформации для эмульсии Эм3 при различных значениях времени после приготовления: 0,5 (1), 3 (2), 24 ч (3).

На рис. 107 в качестве примера для эмульсий Эм2 и Эм2Лз, представлены «прямая» и «обратная» кривые течения, измеренные при повышении и снижении скорости сдвига. Результаты свидетельствуют о небольшом гистерезисе, то есть о тиксотропии. Эмульсия Эм2Лз, содержащая лизоцим, проявляет более выраженный гистерезис и большее структурообразование (более высокие значения эффективной вязкости). При этом площадь гистерезисной петли для эмульсий Эм2 и Эм2Лз 5 масс. % ГПЦ в дисперсионной среде составляет соответственно 500,4 и 923,0 Па·с⁻¹. Для всех исследованных эмульсий наблюдались аналогичные

тиксотропные зависимости. Тиксотропия подтверждает коагуляционную природу контактов между каплями эмульсии. Как известно [419, 109], коагуляционными называют способные к обратимому восстановлению после разрушения контакты, когда притяжение между частицами осуществляется через тонкие прослойки дисперсионной среды. В данном случае капли эмульсии, защищенные смешанными адсорбционными слоями от коалесценции, взаимодействуют через тонкие прослойки дисперсионной среды (симметричные пленки), формируя трехмерную коагуляционную структуру эмульсий.

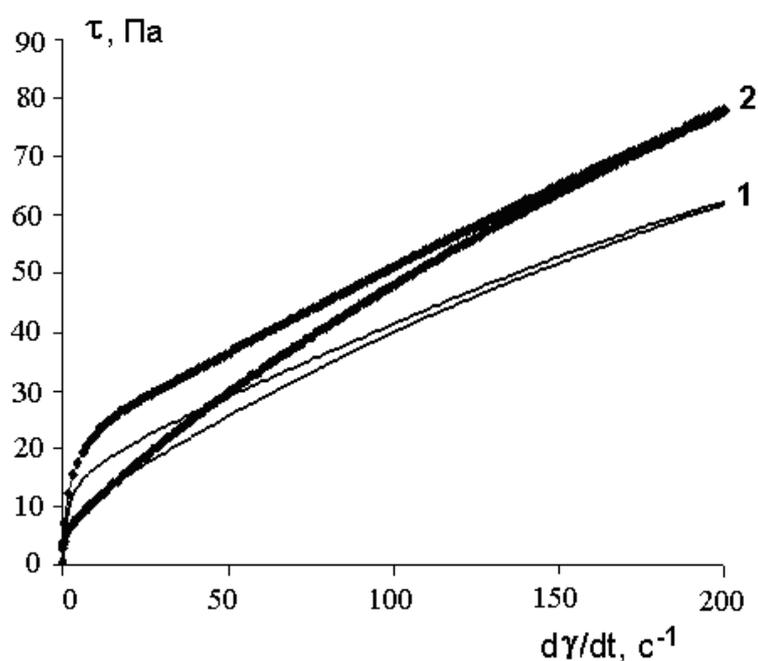


Рис. 107. Тиксотропные кривые течения для эмульсий: 1 – Эм2 и 2 – Эм2Лз (с лизоцимом). Составы эмульсий приведены в табл. 38.

Исследование кинетики относительной деформации $\gamma(t)$ в фазах ползучести, когда приложено постоянное напряжение сдвига $\tau_c = \text{const}$, и восстановления ($\tau_c = 0$), а также ее описание с использованием соответствующей реологической модели позволяет получить информацию об особенностях структуры, сформировавшейся в прямых эмульсиях. Прежде всего, необходимо было найти область линейной вязкоупругости (см. гл. 6). На рис. 108 для эмульсии Эм2 представлена кинетика развития податливости при различных значениях приложенного напряжения сдвига. Из данного рисунка видно, что при значениях $\tau_c = 0.5$ или 1 Па кривые $J_{\tau_c}(t)$

совпадают в пределах ошибок опыта, что соответствует области линейной вязкоупругости. Для других эмульсий были получены аналогичные результаты, поэтому исследования в режиме ползучесть-восстановление во всех случаях проводились при $\tau_c = 1$ Па.

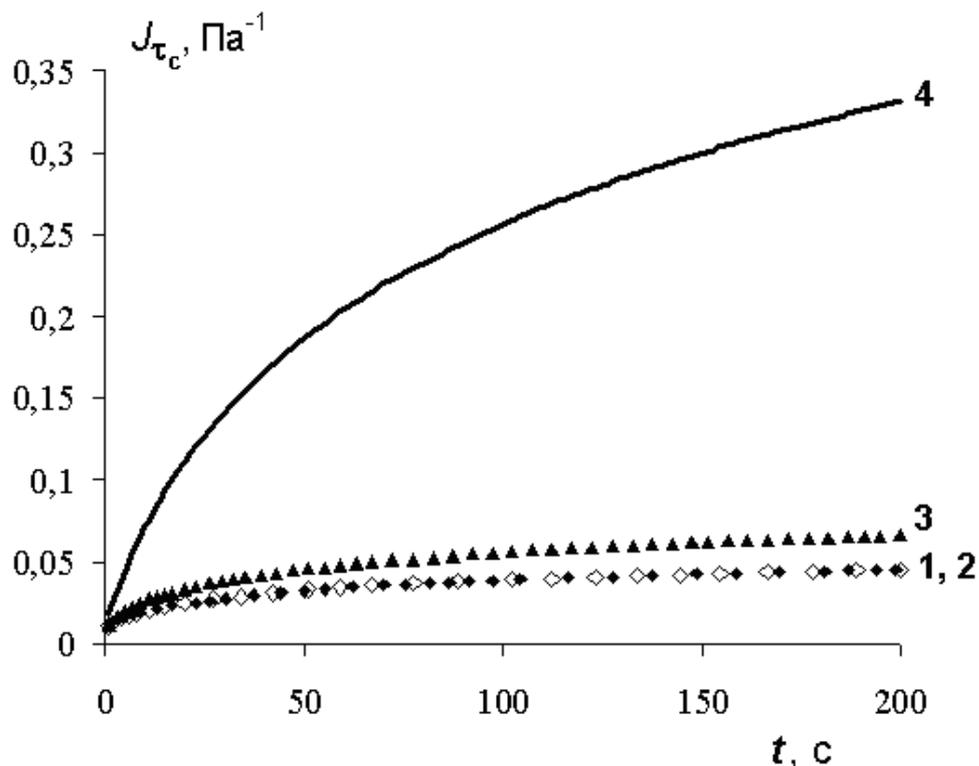


Рис. 108. Кинетика податливости для эмульсии Эм2 при различных значениях приложенного напряжения сдвига (τ_c , режим ползучести): $\tau_c = 0.5$ Па (1), 1 (2), 5 (3), 10 (4).

Как показали расчеты, кинетика деформации на стадии ползучести для исследованных эмульсий хорошо описывается моделью Бюргерса (см. гл. 6). На рис. 109, на котором в качестве типичного примера приведена зависимость $\gamma(t)$ для эмульсии Эм2, видно, что экспериментальные данные хорошо согласуются с результатами расчетов по данной модели. В табл. 40 приведены значения реологических параметров для эмульсий (Эм2, Эм2Лз, Эм4 и Эм4Лз), составы которых выбраны таким образом (см. табл. 38), чтобы можно было проанализировать влияние концентрации гидрофильного полимера и лизоцима в дисперсионной среде на структурообразование в эмульсиях. Для эмульсий Эм2 и Эм4 значения G_0 , G_1 , η_1 и η_0 (табл. 40) заметно различаются и возрастают с увеличением содержания гидрофильного полимера. Аналогичная картина

наблюдается для эмульсий Эм2Лз и Эм4Лз с лизоцимом. Кроме того, очевидно уменьшение значений λ_1 и α , то есть снижение вклада эластичности и повышение «жесткости» структуры с ростом концентрации ГПЦ. Эффективность ГПЦ как модификатора дисперсных систем с гидрофильной дисперсионной средой хорошо известна из литературных данных [428–430].

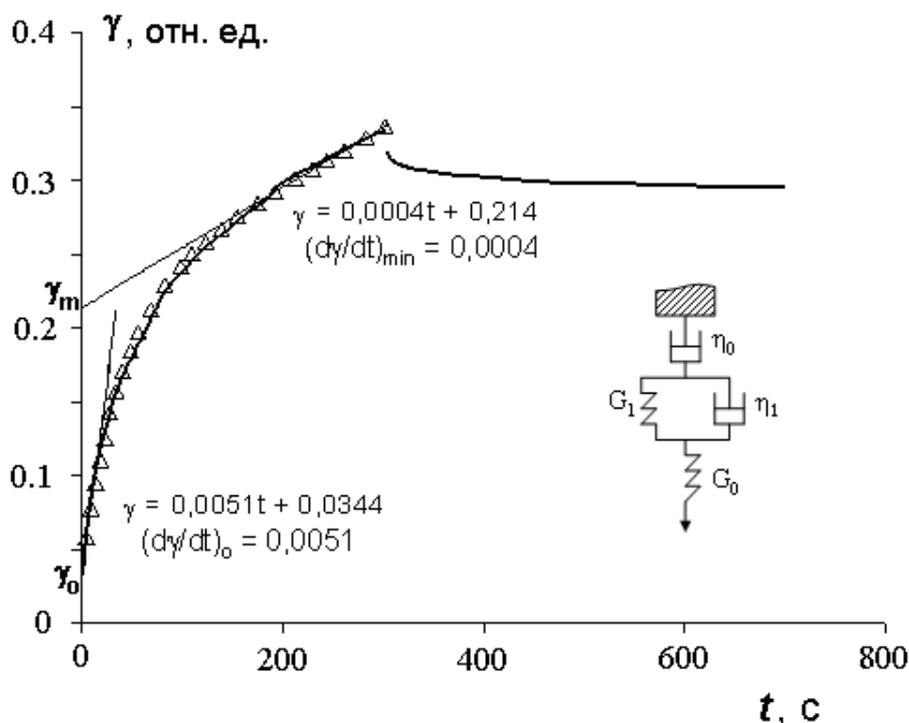


Рис. 109. Зависимости деформации от времени на стадиях ползучести ($\tau_c = 1$ Па) и восстановления ($\tau_c = 0$) для эмульсии Эм2. Точки – расчет по модели Бюргера (см. табл. 40). Состав эмульсии приведен в табл. 38.

Таблица 40. Значения реологических параметров модели Бюргера (G_0 , G_1 , η_0 , η_1 , λ_1), а также степени эластичности (α) для эмульсий Эм2 и Эм2Лз (с 5 % ГПЦ в водной фазе), а также Эм4 и Эм4Лз (с 10 масс. % ГПЦ)

Параметр	Эмульсия*			
	Эм2	Эм2Лз	Эм4	Эм4Лз
G_0 , Па	29.1 ± 0.1	113.2 ± 0.2	136.9 ± 0.3	153.7 ± 0.3
G_1 , Па	5.6 ± 0.1	57 ± 1	208 ± 4	500 ± 10
η_0 , Па·с	2500 ± 40	25000 ± 400	8300 ± 100	125000 ± 1900
η_1 , Па·с	213 ± 3	2170 ± 30	5300 ± 200	14000 ± 500
λ_1 , с	38 ± 2	38 ± 2	26 ± 1	28 ± 1
α , %	84 ± 2	67 ± 2	40 ± 1	23 ± 1

*Составы эмульсий приведены в табл. 38.

Влияние лизоцима можно проанализировать, попарно сопоставляя реологические параметры эмульсий Эм2 и Эм2Лз, а также Эм4 и Эм4Лз, составы которых отличаются лишь наличием или отсутствием лизоцима. Из табл. 40 видно, что в присутствии лизоцима значения модулей упругости G_0 и эластичности G_1 , а также вязкости обоих элементов η_1 и η_0 возрастают, а значения α уменьшаются, что свидетельствует о структурирующем действии лизоцима.

Типичные зависимости комплексного модуля (G^*), а также модулей упругости (G') и потерь (G'') от амплитуды колебаний напряжения сдвига (τ_0) при постоянной частоте ($f = 1$ Гц) приведены на рис. 110. Видно, что в области $\tau_0 < 2$ Па значения всех модулей постоянны (область линейной вязкоупругости, см. гл. 6). Поэтому все осцилляционные испытания проводили при $\tau_0 = 1$ Па. На рис. 110 также видно, что при низких значениях τ_0 значения $G^* \cong G' > G''$, тогда как при увеличении интенсивности воздействия (высокие значения амплитуды колебаний) соотношение модулей кардинально меняется ($G^* \cong G'' > G'$), что означает переход от упругого поведения к вязкому. Полученные результаты, по-видимому, объясняются разрушением коагуляционной структуры при возрастании τ_0 , то есть переходом эмульсии из структурированного связнодисперсного состояния в свободнодисперсное.

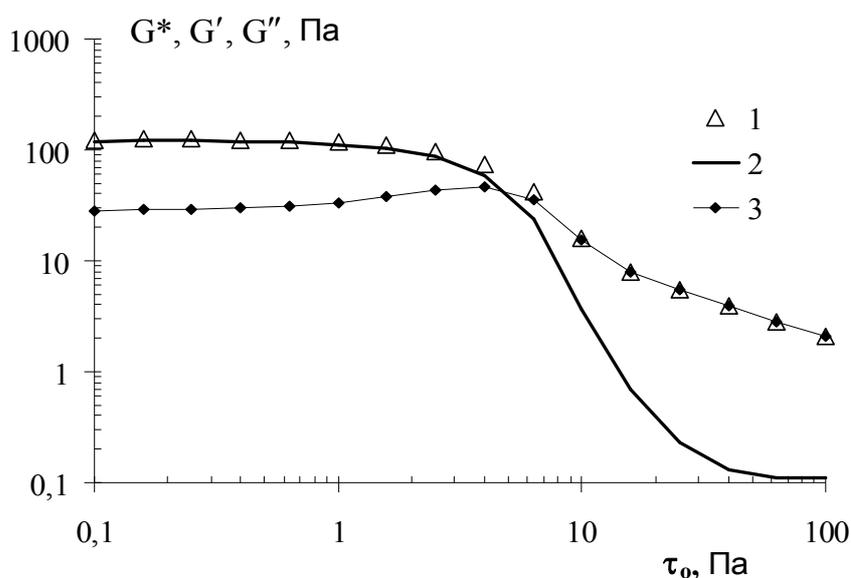


Рис. 110. Зависимости комплексного модуля ($G^* - 1$), а также модулей упругости ($G' - 2$) и потерь ($G'' - 3$) от амплитуды колебаний напряжения сдвига при постоянной частоте ($f = 1$ Гц) для эмульсии Эм3.

Подтверждением структурообразования в исследованных прямых эмульсиях также является рис. 111, на котором на примере Эм3 показаны типичные результаты осцилляционных испытаний, из которых видно превышение модуля упругости над модулем потерь во всем интервале угловых частот.

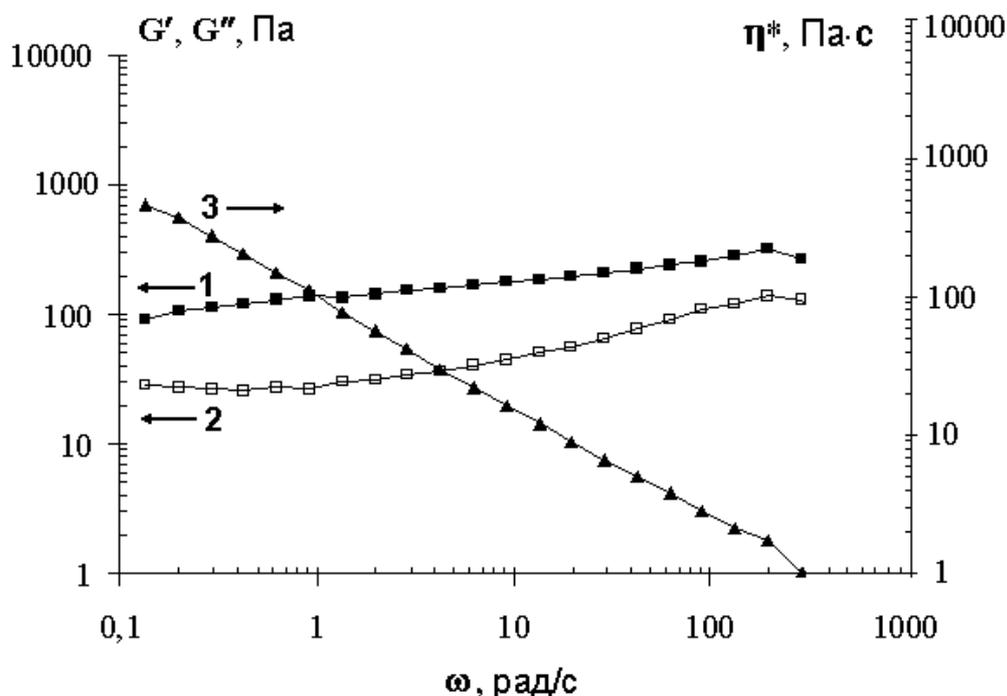


Рис. 111. Зависимости модулей упругости (1), потерь (2) и комплексной вязкости (3) от частоты колебаний для Эм3.

Комплексный анализ реологических свойств эмульсий свидетельствует о том, что ГПЦ и лизоцим являются структурообразователями. Флокулирующее действие гидрофильного полимера может проходить по деплеционному или мостиковому механизмам [431–435]. Известно [431, 432], что находящийся в дисперсионной среде полимер может вызывать деплеционную флокуляцию, когда две капли сближаются на расстояние меньшее, чем диаметр молекулы полимера, происходит его вытеснение из зазора между каплями, сопровождающееся уменьшением осмотического давления в зазоре. Флокуляция по мостиковому механизму наблюдается, когда полимер одновременно адсорбируется на двух соседних каплях [433–435]. С учетом высокой поверхностной активности ГПЦ на межфазной границе вода/масло [372, 436] и особенностей структуры ее макромолекул (см. гл. 2) мостиковый механизм в данном случае, вероятно, является ключевым. Однако с

учетом большой концентрации ГПЦ в дисперсионной среде эмульсий деплеционный механизм также может иметь место.

Механизм флокулирующего действия Лз следует анализировать с учетом его физико-химических свойств. Известно, что Лз адсорбируется на межфазных границах вода/воздух и вода/углеводород [437–441]. В отсутствие конкурирующих добавок его адсорбция является практически необратимой [437, 438], однако в присутствии невзаимодействующего с данным белком и более поверхностно-активного ПАВ (анионного или неионогенного) лизоцим вытесняется с поверхности [440, 442]. В исследуемых эмульсиях происходит конкурирующая адсорбция СИС, ГПЦ, НПАВ и лизоцима. На основе тензиометрических измерений для водных растворов ГПЦ и Твин 80 на границе с гептаном [372, 436], а также для растворов Лз на границе с октаном [440] можно заключить, что белок обладает меньшей поверхностной активностью $G = \lim(-d\sigma/dC)_{C \rightarrow 0}$ по сравнению с ГПЦ (рис. 112).

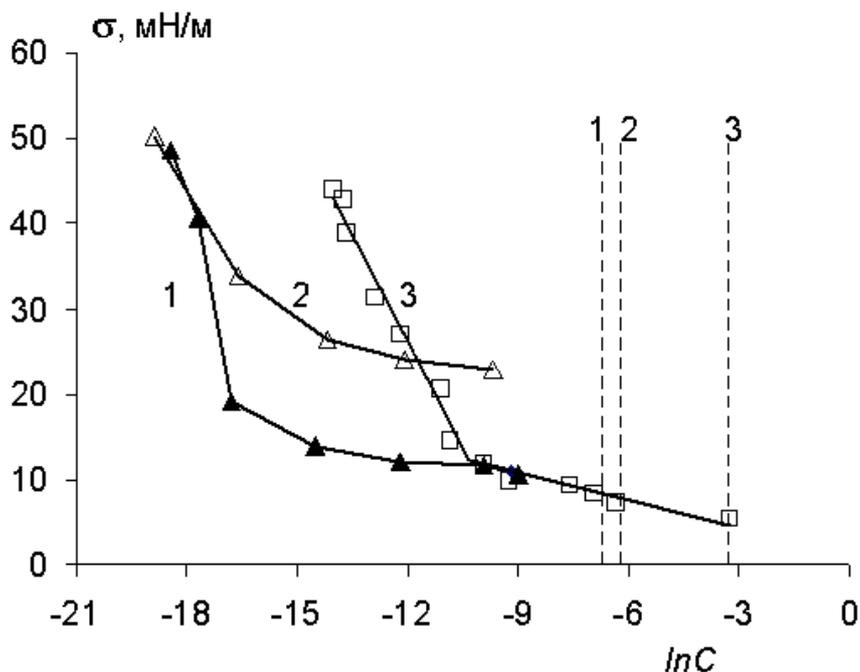


Рис. 112. Изотермы межфазного натяжения водных растворов ГПЦ (1), лизоцима (2) и Твин 80 (3) на границах с углеводородом при 24°C: 1 и 3 – с гептаном (наши данные), 2 – с октаном (лит. данные [440]). Вертикальные линии соответствуют концентрациям соответствующих компонентов в дисперсионной среде эмульсии Эм8Лз (см. табл. 38).

На рис. 112 видно, что белок наименее эффективно снижает межфазное натяжение. Минимальное значение σ на границе водный раствор/углеводород примерно составляет 10, 5 и 21 мН/м для ГПЦ, Твин 80 и Лз, соответственно. При этом молярная концентрация Твин 80 в дисперсионной среде примерно в 20 раз превышает концентрацию остальных компонентов. Поэтому можно предположить, что Лз в основном будет присутствовать не в адсорбционных слоях на поверхности капель эмульсии, а в объеме дисперсионной среды. С учетом жесткого и компактного строения глобулы лизоцима, представляющей собой эллипсоид вращения с осями 3 и 4.5 нм [190], можно предположить, что фермент с помощью водородных связей встраивается во флокуляционные мостики, сформированные макромолекулами ГПЦ.

Таким образом, комплексное реологическое исследование позволяет заключить, что прямые эмульсии, составы которых представлены в табл. 38, проявляют упруговязкое эластическое поведение, обусловленное формированием перколяционной структуры, состоящей из капель эмульсии, связанных коагуляционными контактами.

Пленкообразующие свойства эмульсий изучались при нанесении их на поверхность ПЭТ (Loragex 7300A), имеющего неадгезионную и адгезионную стороны (описание процедуры в гл. 2). Гидрофобность двух различных поверхностей ПЭТ оценивали по значению краевого угла смачивания водой ($\theta_{\text{H}_2\text{O}}$), измеренного с помощью горизонтального микроскопа, снабженного фотокамерой. Значения $\theta_{\text{H}_2\text{O}}$ для адгезионной и неадгезионной сторон ПЭТ при 20°C соответственно составляли 93° и 105° (точность $\pm 1^\circ$).

Эмульсии с $\phi_m < 0.32$ не формировали устойчивых пленок на неадгезионной, более гидрофобной силиконизированной стороне ПЭТ, что характерно для прямых эмульсий. В таких случаях пленки получали на адгезионной стороне подложки. Вместе с тем, прямые эмульсии со значениями $\phi_m \geq 0.47$ и упруговязкими свойствами обладали способностью образовывать стабильные пленки даже на неадгезионной стороне ПЭТ.

На рис. 113 представлена кинетика выделения лизоцима в буферный раствор из полимерной матрицы на основе эмульсии Эм1Лз (см. табл. 38), полученная по ферментативной активности (ФА, см. гл. 2) и спектрофотометрически. Видно, что

результаты обеих методик совпадают в пределах ошибок опыта. Показано (рис. 114), что лизоцим, высвобождающийся из полимерной пленки, сохраняет свою ферментативную активность, о чем свидетельствует уменьшение оптической плотности суспензии бактериальных клеток *Micrococcus Lysodeikticus* вследствие их деградации. Это принципиально важный результат.

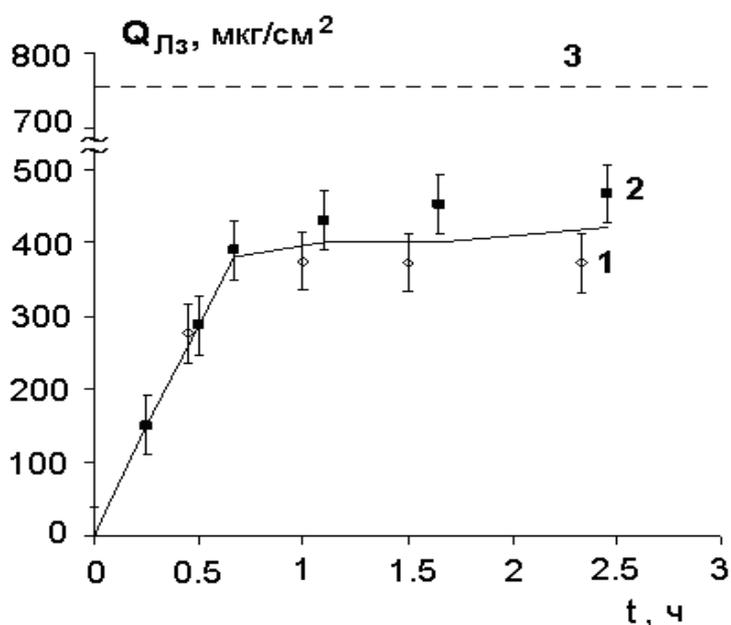


Рис. 113. Кинетика выделения лизоцима в буферный раствор из матрицы на основе эмульсии М/В (М – толуол + 2% СИС + 3% Тв и В – вода + 8% ГПЦ+ 5% Тв + 2.7% Лз, $\phi_m = 0.47$) при 20°C. Данные получены с помощью определения ферментативной активности Лз (1) и УФ-спектроскопии (2). Исходное содержание Лз в пленке (3).

На рис. 113 видно, что зависимость $Q_L(t)$ линейна при $t < 45$ мин. В течение первых 45 мин с постоянной скоростью выделяется примерно 50 % фермента (от первоначального его количества в пленке). Скорость выделения лизоцима dQ_L/dt составляла 570 мкг/(см²·ч). В течение следующих двух часов выделяется еще примерно 10 % фермента. Для пленок, полученных на основе эмульсий Эм2Лз, Эм4Лз и Эм8Лз, также наблюдалось быстрое высвобождение лизоцима при сохранении его ферментативной активности. В течение 60–90 мин примерно 60–90% от иммобилизованного в матрице лизоцима выделялось в буферный раствор. Результаты оказались обнадеживающими. Пластыри на основе таких

пленок могут быть использованы для доставки бактерицидного фермента на поверхность кожи в течение нескольких часов.

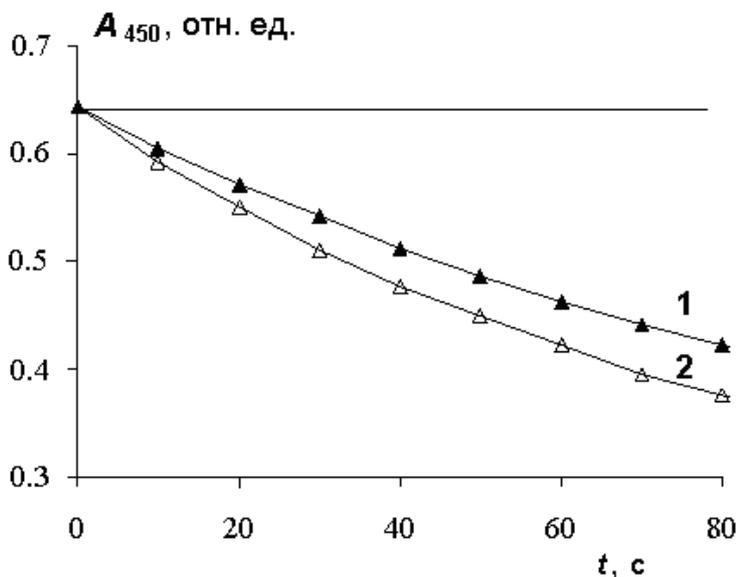


Рис. 114. Кинетика уменьшения оптической плотности (при 450 нм, A_{450}) суспензии бактериальной культуры *Micrococcus Lysodeikticus* в фосфатном буфере (рН = 6.86) при добавлении пробы приемной среды из ячейки Франца, содержащей выделившийся из полимерной матрицы (на основе Эм8Лз) лизоцим. Пробы отбирали через различные промежутки времени: 1 – 37 и 2 – 90 мин. Горизонтальная линия – холостой опыт.

Для выяснения механизма столь быстрого высвобождения фермента необходимо проанализировать морфологию полученных полимерных матриц. На рис. 115 представлены данные АСМ для полимерной матрицы с лизоцимом на основе эмульсии Эм8Лз; наблюдаются наноразмерные кристаллические зародыши (рис. 115). Кроме нанокристаллов фермента, образовавшихся на поверхности пленки, лизоцим может находиться в виде молекул (адсорбированных на поверхности пленки или включенных в ее объем). Скорости растворения фермента в этих трех случаях различны. Нанокристаллы, вследствие избытка свободной энергии на их поверхности, обладают повышенным химическим потенциалом и, как следствие, повышенной растворимостью в соответствии с уравнением Гиббса-Фрейндлиха-Оствальда [109]:

$$C_r = C_o \exp(2\sigma V_m / rRT),$$

где C_0 – растворимость макроскопической фазы; σ – удельная свободная межфазная энергия зародыша; V_m – молярный объем лизоцима; r – эффективный радиус наночастицы; R универсальная газовая постоянная.

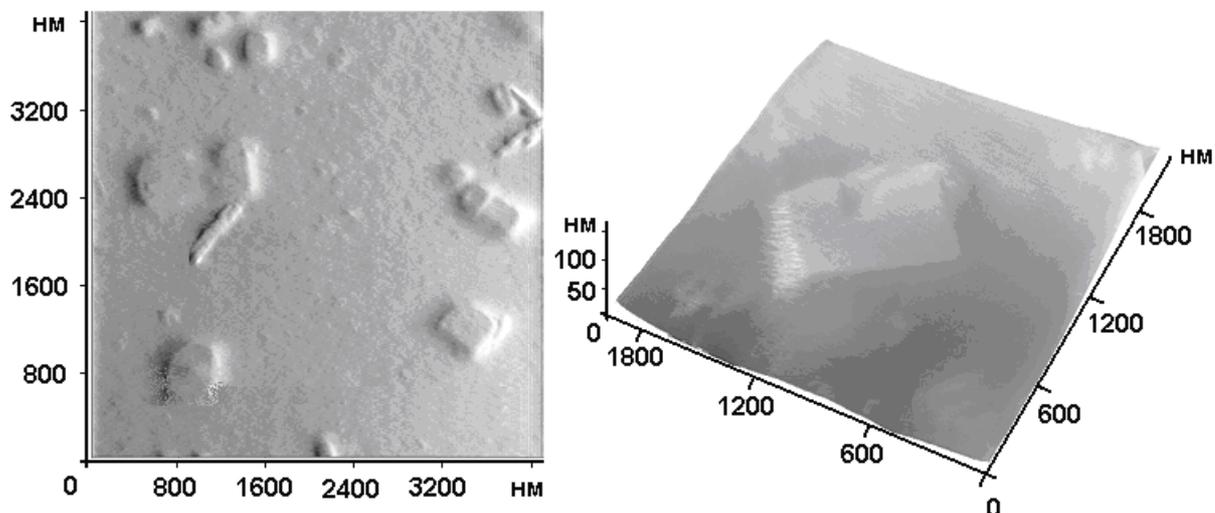


Рис. 115. Морфология полимерной матрицы, полученной из прямой эмульсии на основе ГПЦ, СИС и Твин 80 с инкорпорированным лизоцимом (данные АСМ).

Десорбция адсорбированных молекул белка энергетически затруднена [443], также как и диффузия из объема пленки, что практически исключает выход фермента в водную фазу за период измерения. Даже гели каррагенана с иммобилизованным лизоцимом [444] демонстрировали медленное высвобождение фермента в контактирующую водную фазу.

Таким образом, исследованные прямые ультрадисперсные эмульсии, стабилизированные смешанными адсорбционными слоями НПАВ и полимеров различной полярности, сохраняют стабильность в течение длительного времени. Комплексные прямые эмульсии являются структурированными жидкостями с ярко выраженной аномалией вязкости, тиксотропными, вязкоупругими и высокоэластическими свойствами (модель Бюргера), что определяет их уникальные пленкообразующие качества. Из эмульсий получены полимерные матрицы с включенным ферментом, обнаружена его 2D кристаллизация, что обеспечивает быстрое высвобождение в водную фазу при сохранении ферментативной активности [207, 406, 445–448].

8.2. Двойные эмульсии масло₁/вода/масло₂ и полимерные матрицы с лизоцимом

Для увеличения продолжительности выделения лизоцима из полимерных матриц изучена возможность их разработки на основе двойных эмульсий $M_1/V/M_2$, в водную жидкую мембрану которых инкорпорирован данный белок. Задачи исследования включали: разработку стабильных двойных эмульсий на основе полиакрилатов (ДТ) с иммобилизованным белком, оценку влияния Лз на свойства ДЭ и получение на их основе полимерных ультрамикроретерогенных матриц для пролонгированной доставки лизоцима с сохранением его ферментативной активности.

Двойные эмульсии с лизоцимом получали в две стадии с учетом выявленных нами коллоидно-химических закономерностей повышения их агрегативной устойчивости (см. главы 5, 6 и 7). Обязательным компонентом дисперсной фазы первичных миниэмульсий M_1/V , которые получали при ультразвуковом диспергировании (1 стадия процесса), был ГМО как эффективный УП кожи и ингибитор оствальдова созревания (глава 5). Дисперсионная среда миниэмульсий включала ГПЦ, Твин 80 и Лз. Весовая доля масляной фазы в первичной эмульсии $\varphi_{M1}^{(M1/V)}$ составляла 0.35 или 0.40.

Факторы стабилизации первичных прямых миниэмульсий гептан/вода были проанализированы в главе 5 на основе данных дисперсионного анализа и тензиометрических измерений. Напомним, что совместная адсорбция ГПЦ, Твин 80, ГМО, а также незначительная добавка этилового спирта обеспечивают снижение σ на межфазной границе капля/среда до десятых долей мН/м, что характерно для псевдолиофильных дисперсных систем, устойчивых к коагуляции, а значит и к коалесценции [109]. К факторам стабилизации миниэмульсий относится и ингибирующее действие ГМО на оствальдово созревание, стерическая составляющая расклинивающего давления, которая обеспечивается полимерными «щетками» ГПЦ, находящимися в водной фазе и препятствующими сближению капель [449], а также загущающее действие ГПЦ.

На рис. 116 в качестве примера представлены результаты дисперсионного анализа для первичной эмульсии M_1/V с лизоцимом ($\varphi_{M1}^{(M1/V)} = 0.35$) при различном времени хранения. Составы фаз этой эмульсии приведены в табл. 41. На рис. 116

видно, что эмульсия ультрадисперсная, размеры частиц находятся в диапазоне $50 < d < 1000$ нм, а их распределение по размерам остается практически неизменным за весь период наблюдения – несколько часов. Этого вполне достаточно для дальнейшего применения данной миниэмульсии на 2-й стадии процесса получения ДЭ. Таким образом, инкорпорирование Лз в водную фазу миниэмульсии не ухудшает ее качеств.

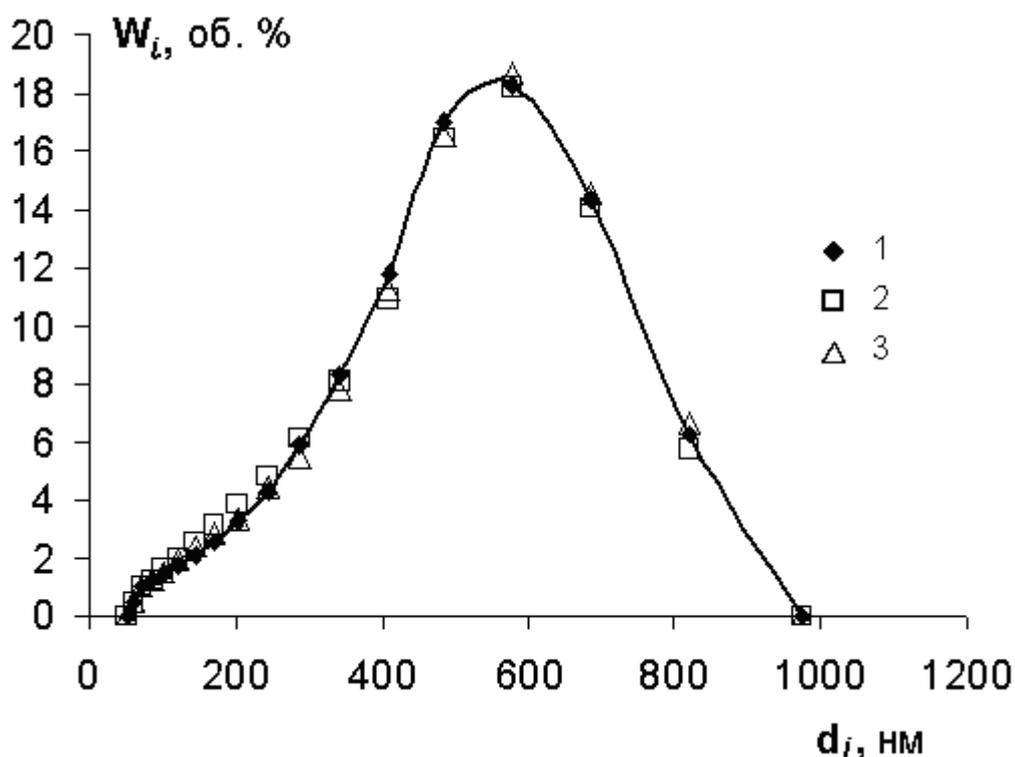


Рис. 116. Дифференциальные кривые распределения частиц миниэмульсии M_1/V с лизоцимом через различные промежутки времени после приготовления: 1 – 5, 2 – 60, 3 – 180 мин. Составы фаз M_1 и V приведены в табл. 4, значение массовой доли дисперсной фазы составляет 0.35.

Свежеприготовленные первичные эмульсии M_1/V с лизоцимом использовали для приготовления двойных эмульсий $M_1/V/M_2$. В качестве внешней дисперсионной среды M_2 были взяты растворы ДТ в этилацетате ($C_{DT} = 45$ и 60 масс. %), характеризующиеся вязкоупругим эластическим поведением (модель Бюргера, гл. 6). По аналогии с использованными ранее аббревиатурами, разработанные двойные эмульсии обозначены как ДЭ_{ЛзДТ45} и ДЭ_{ЛзДТ60}, где подстрочный индекс отражает наличие Лз и тип полимерного адгезива, а цифры – концентрацию ДТ во внешней

дисперсионной среде. Весовая доля первичной эмульсии в двойной эмульсии составляла 0.45, что соответствует умеренно концентрированным эмульсиям.

Таблица 41. Состав ДЭ с инкорпорированным лизоцимом

Фаза ДЭ	Компонент	Концентрация в фазе, масс. %	Массовая доля фазы в ДЭ	Концентрация в ДЭ, масс. %
Фаза М ₁	ГМО	10.0	0.16	1.6
	Гептан	82.8		13.0
	Этанол	7.2		1.1
Фаза В	Лизоцим	3.0	0.29	0.9
	ГПЦ	10.0		2.9
	Твин 80	5.0		1.5
	Вода	82.0		24.0
Фаза М ₂	ДТ	60.0	0.55	33.0
	этилацетат	40.0		22.0

По визуальным наблюдениям приготовленные двойные эмульсии были молочно-белыми и достаточно стабильными (от 3 до 7 сут), что не отличало их от ДЭ аналогичного состава, но без лизоцима. Влияние лизоцима на реологические свойства ДЭ исследовано на основе кинетических испытаний в режиме ползучесть–восстановление (рис. 117). Показано, что применима модель Бюргерса, при этом лизоцим практически не влияет на параметры данной модели (табл. 42). Таким образом, введение Лз в водную прослойку не изменяет реологических свойств ДЭ, которые определяются вязкоупругими свойствами внешней дисперсионной среды (см. гл. 7). Очевидно, что факторами агрегативной устойчивости ДЭ с лизоцимом, как и для плацебо ДЭ (см. гл. 7) являются смешанный адсорбционный слой ГПЦ и Твин 80 на внешней межфазной границе ДЭ вода/этилацетат и вязкоупругие свойства внешней дисперсионной среды – раствора ДТ.

Разработанные двойные эмульсии с лизоцимом обладают хорошими пленкообразующими свойствами. Для получения пленок на гидрофобной подложке (неадгезионной стороне ПЭТ марки Loparex 7300A) использовали свежеприготовленные ДЭ, процедура описана в главе 2. Толщина нанесения ДЭ составляла 375 нм, а толщина матриц после сушки – 70–80 мкм. На рис. 118 в качестве примера представлена микроструктура полимерной матрицы, полученной из двойной эмульсии ДЭ_{лзДТ}60. Видно, что матрица имеет ультрамикрорегетерогенную структуру, содержащую микродомены. Это позволяет отнести ее к пленкам микрорезервуарного типа. Пленки демонстрировали хорошую адгезию к коже.

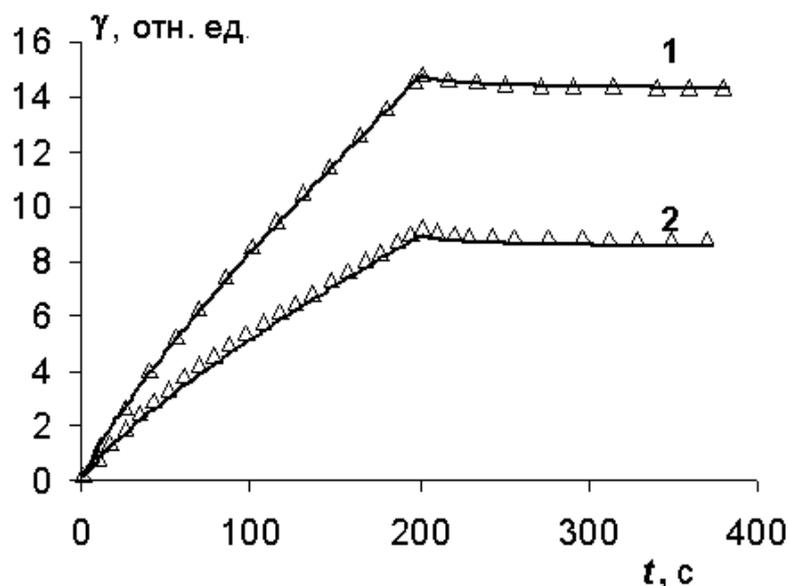


Рис. 117. Зависимости деформации от времени (режим ползучесть – восстановление) для двойных эмульсий с лизоцимом и без: 1 – ДЭ_{лзДТ}45 (символы) и ДЭ_{ДТ}45 (сплошные линии), 2 – ДЭ_{лзДТ}60 (символы) и ДЭ_{ДТ}60 (сплошные линии).

Таблица 42. Параметры модели Бюргерса для двойных эмульсий на основе ДТ с инкорпорированным лизоцимом и без него

Эмульсия	G_0 , Па	G_1 , Па	η_0 , Па·с	η_1 , Па·с	λ , с	α , %
ДЭ _{ДТ} 45	13.9 ± 0.2	0.45 ± 0.01	16.1 ± 0.2	16.5 ± 0.2	37 ± 1	97 ± 1
ДЭ _{лзДТ} 45	18.2 ± 0.2	0.33 ± 0.01	17.2 ± 0.2	17.6 ± 0.2	54 ± 1	98 ± 1
ДЭ _{ДТ} 60	19.8 ± 0.2	0.54 ± 0.01	28.6 ± 0.3	21.5 ± 0.2	40 ± 1	98 ± 1
ДЭ _{лзДТ} 60	19.0 ± 0.2	0.5 ± 0.01	28 ± 0.3	19.5 ± 0.2	39 ± 1	98 ± 1

Способность матриц выделять лизоцим при контакте с фосфатным буферным раствором ($\text{pH} = 6.86$) оценивали по его ферментативной активности с помощью диффузионной ячейки Франца. Обоснование эффективности методики, ее процедура и расчетные уравнения приведены в главе 2. На рис. 119 представлены убывающие зависимости $A_{450}(t)$ для суспензии бактерий *Micrococcus lysodeikticus* в фосфатном буфере после добавления пробы приемной среды, содержащей лизоцим, выделившийся из матрицы на основе двойной эмульсии ДЭ_{ЛзДТ}60. Пробы приемной среды из ячейки Франца отбирали через различные промежутки времени (5.75, 22, ..., 168 ч.) и исследовали на спектрофотометре. Рис. 119 подтверждает, что высвобождающийся из матрицы лизоцим сохраняет ферментативную активность.

На основе данных по ферментативной активности рассчитано количество Лз, выделившегося из полимерной пленки в различные промежутки времени ($Q_{\text{Лз}}(t)$, рис. 120). Из первого линейного участка зависимости $Q_{\text{Лз}}(t) = A \cdot t - B$ определяли время задержки выделения фермента $\tau^* = 7$ ч (рис. 120). Задержка выделения свидетельствует об отсутствии нанокристаллов Лз на поверхности матрицы, повышенный химический потенциал которых, как показано в первом разделе данной главы, провоцировал быстрое их растворение и соответственно быстрое высвобождение фермента из пленок на основе прямых эмульсий.

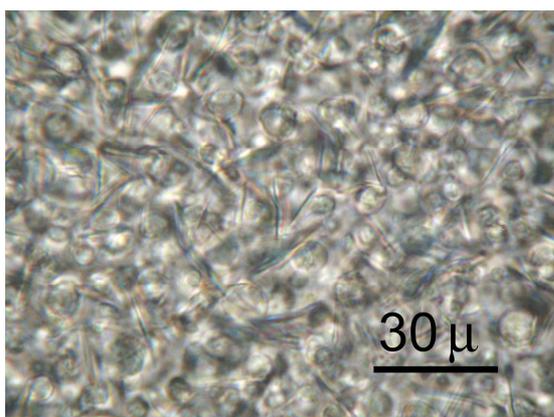


Рис. 118. Микроструктура полимерной матрицы на основе двойной эмульсии ДЭ_{ЛзДТ}60 (оптическая микроскопия).

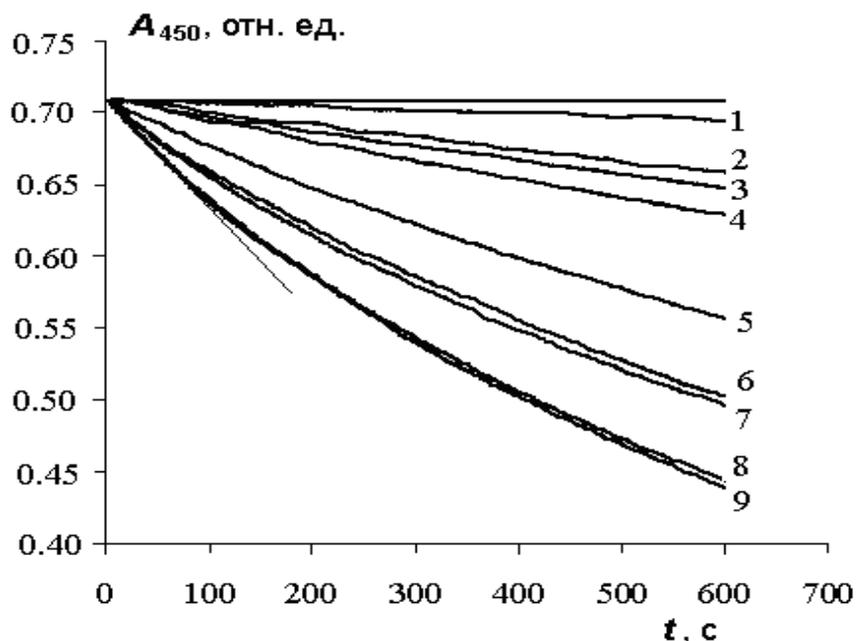


Рис. 119. Кинетика уменьшения оптической плотности (при 450 нм, A_{450}) суспензии бактериальной культуры *Micrococcus lysodeikticus* при добавлении пробы приемной среды из ячейки Франца, содержащей выделившийся из полимерной матрицы (на основе ДЭ_{ЛЗДТ}60) лизоцим. Пробы отбирали из ячейки Франца спустя разные промежутки времени: 1 – 5.75, 2 – 22, 3 – 25, 4 – 27, 5 – 45, 6 – 70, 7 – 74, 8 – 146, 9 – 168 ч. Горизонтальная линия – холостой опыт.

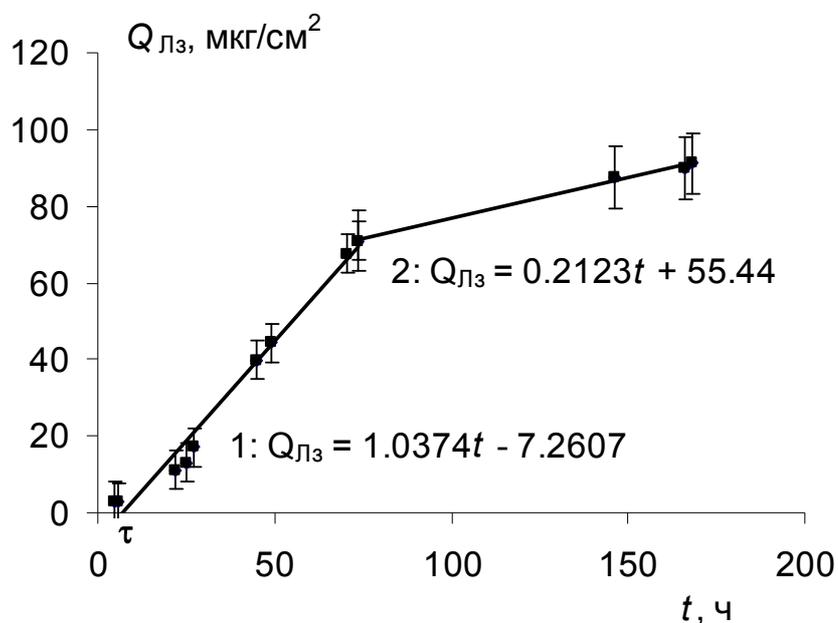


Рис. 120. Кинетика выделения лизоцима из полимерной матрицы, полученной на основе двойной эмульсии ДЭ_{ЛЗДТ}60. Загрузка Лз – 256 мкг/см².

Из рис. 120 следует, что в интервале значений t от 7 ч до 3 сут скорость процесса постоянна $dQ_{\text{Лз}}/dt = 1.04 \text{ мкг}/(\text{см}^2 \text{ ч})$. Далее в интервале $3 < t \leq 7$ сут она уменьшалась, но сохраняла постоянное значение ($0.21 \text{ мкг}/(\text{см}^2 \cdot \text{ч})$). Концентрация Лз в матрице составляла $257 \text{ мкг}/\text{см}^2$ (при толщине нанесения эмульсии 375 мкм и ее плотности $0.8775 \text{ г}/\text{см}^3$). В течение первых трех суток выделилось 29 % Лз, в следующие четверо суток – еще 7 %. Время наблюдения ограничивалось 7 сутками.

Таким образом, разработанные микрогетерогенные полимерные матрицы на основе ДЭ с инкорпорированным в водную прослойку лизоцимом, демонстрировали его пролонгированное высвобождение с сохранением ферментативной активности [326, 386]. Скорость выделения, вероятно, лимитируется диффузионным массопереносом Лз в матрице, а не растворением нанокристаллов Лз на ее поверхности, как наблюдалось для полимерных матриц на основе прямых эмульсий, в которых Лз был инкорпорирован в дисперсионную среду.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Работа посвящена разработке коллоидно-химических основ получения микрогетерогенных полимерных матриц для трансдермальной доставки липофильных Лк, а также для доставки к поверхности кожи гидрофильных белков без потери ферментативной активности, исходя из детального анализа механизмов стабилизации и свойств жидкофазных дисперсных систем различной морфологии с использованием широкого круга физико-химических методов. Предложенный новый подход к получению адгезивных матриц для доставки Лк на основе эмульсий различного типа, включая двойные $M_1/W/M_2$ эмульсии, реализован для липофильных лекарств гипотензивного назначения фелодипина и амлодипина, а также для глобулярного белка лизоцима, обладающего бактерицидным и иммуномодулирующим действием.

Разработаны экспериментальные и теоретические подходы, позволившие получить всестороннюю информацию о структуре и свойствах мицелл неионогенных ПАВ (НПАВ) с солюбилизированным лекарством (Лк) и усилителем проницаемости (УП) кожи. Для смешанных мицелл НПАВ+Лк, НПАВ+УП, НПАВ+УП+Лк изучены числа агрегации компонентов, локализация солюбилизаторов, степень гидратации мицелл, коэффициенты диффузии, способность транспортировать Лк и УП в водной среде. Показано, что диффузия трехкомпонентных мицелл НПАВ+УП+Лк определяет скорость массопереноса Лк и УП. Обнаружено повышение эффективности массопереноса Лк (Ф и Ам) мицеллами НПАВ в присутствии УП, установлены механизмы этого эффекта, зависящие от способности УП встраиваться в мицеллы. В качестве НПАВ использован полиоксиэтилен (20) сорбитан моноолеат (Твин 80, Тв), одобренный для медицинского применения и обладающий низкой гемолитической активностью, а в качестве УП кожи – глицерилмоноолеат (ГМО) и глицерилмонолаурат (ГМЛ).

Растворимость Лк (Ф и Ам) в исследованных мицеллярных системах возрастает с ростом концентрации Твин 80 и может превышать растворимость лекарства в воде на 1–3 порядка и более. Полученная информация о количестве молекул каждого компонента в мицеллах Тв с солюбилизированными Лк и УП, о коэффициентах диффузии и размерах мицелл позволяет рассчитывать в рамках

диффузионной теории кинетику массопереноса целевых компонентов в водной среде и прогнозировать (а не эмпирически подбирать) эффективные для доставки Лк составы обратных вода/масло (В/М) и двойных масло₁/вода/масло₂ (М₁/В/М₂) эмульсий, водные фазы которых включают трехкомпонентные мицеллы НП АВ+УП+Лк.

На основании анализа состояния проблемы использования термодинамически устойчивых микроэмульсий для трансдермальной доставки гидрофобных Лк сформулирована задача экспериментальных исследований: получение макроскопически однофазных прямых МЭ с пониженным содержанием стабилизаторов (во избежание негативных воздействий на кожу), хорошо растворяющих Лк, с использованием только нетоксичных, биосовместимых компонентов, способных проявлять свойства усилителей проницаемости кожи. Эта задача решена на примере фелодипина и амлодипина. Показано, что введение небольшой добавки ГПЦ позволяет существенно уменьшить концентрацию НП АВ. Показана эффективность разработанных МЭ при мембранном и трансдермальном массопереносе липофильных Лк.

До настоящего времени получение стабильных миниэмульсий масло/вода на основе легколетучих углеводов остается сложной и нерешенной задачей, но именно они являются предметом данного исследования, поскольку целевые полимерные матрицы не должны содержать органических растворителей. Разработка стабильных миниэмульсий гептан/вода (1-ая стадия получения двойных эмульсий) включала изучение влияния компонентов, необходимых для трансдермальной доставки Лк, на стабильность этих миниэмульсий, анализ причин их дегградации, а также способов ингибирования факторов дестабилизации. Стабильность миниэмульсий в значительной мере зависит от процесса оствальдова созревания (ОС), особенно в случае достаточно хорошо растворимых в воде углеводов (гексан, гептан).

Исследованы причины разрушения модельных миниэмульсий гептан/вода с низким содержанием дисперсной фазы (0.01, 0.02, 0.03 об. д.), полученных при ультразвуковом диспергировании и содержащих единственный стабилизатор. Гидрофильный стабилизатор (Твин 80 или гидроксипропилцеллюлоза) присутствовал в дисперсионной среде, а липофильный (Ф, Ам или ГМО) – в

дисперсной фазе. Все стабилизаторы проявляли поверхностную активность на границе гептан/вода.

Причины деградации миниэмульсий проанализированы на основе дифференциальных кривых распределения частиц по размерам $W_i(d_i)$ и $W_i(d_i/d_{cp})$, кинетических зависимостей куба среднего радиуса частиц $r_{cp}^3(t)$, радиуса частиц каждой фракции $r_i(t)$, суммарной площади межфазной поверхности капель $S_{\Sigma}(t)$, а также изотерм межфазного натяжения стабилизаторов на границе гептан/вода.

Все исследованные эмульсии имели субмикронные размеры частиц. Установлено, что нормализованные функции распределения частиц по размерам $W_i(d_i/d_{cp})$ не зависят от времени; зависимости $r_{cp}^3(t)$ являются линейными функциями, из которых определяется скорость деградации миниэмульсий (w_3); объемная доля дисперсной фазы не влияла w_3 . Эти результаты свидетельствуют об определяющей роли ОС в процессе деградации исследованных миниэмульсий.

Ингибирующее действие возрастает в ряду: Тв < ГМО < ГПЦ < Ф. Амлодипин, растворимость которого в дисперсионной среде превышает растворимость гептана, не влияет на скорость деградации миниэмульсий, то есть не оказывает ингибирующего действия на ОС. Гидрофильные стабилизаторы (Твин 80 и ГПЦ) ингибируют процесс в соответствии с теорией ЛСВ за счет адсорбции из дисперсионной среды и уменьшения межфазного натяжения.

Липофильные ГМО и Ф с меньшей, чем у гептана растворимостью в дисперсионной среде, добавленные в дисперсную фазу миниэмульсии, уменьшают скорость ОС тем эффективнее, чем ниже их растворимость в воде. Ингибирующее действие этих добавок напрямую связано с их поверхностной активностью и низкой растворимостью в дисперсионной среде. В процессе ОС гептан диффундирует с большей скоростью, нежели добавка, что приводит к различию композиционного состава капель разных размеров. Капли меньших размеров, обогащенные поверхностно-активной добавкой, характеризуются более низкими значениями σ и, наоборот, крупные капли (обогащенные гептаном) с пониженным содержанием добавки имеют повышенные значения межфазного натяжения. Это уменьшает капиллярные эффекты, являющиеся причиной ОС, и тормозит деградацию миниэмульсий. Ингибирующее действие липофильных Лк и УП кожи обнаружено впервые.

Предложенные способы ингибирования ОС могут быть полезны для получения стабильных субмикронных эмульсий различного функционального назначения (для фармакологии, косметологии, пищевой промышленности и т.п.). Кроме того, такие прямые миниэмульсии M_1/V могут служить премиксами двойных эмульсий $M_1/V/M_2$.

При инкорпорировании жидкофазных систем (мицеллярные растворы НПВВ, микро- и миниэмульсии), водная дисперсионная среда которых содержит носители липофильного Лк, в растворы полимерных адгезивов в неполярных растворителях получены эмульсии различного типа (от обратных до двойных $\text{масло}_1/\text{вода}/\text{масло}_2$), использованные в качестве основы полимерных матриц.

Изучены реологические свойства растворов полимерных адгезивов (ДТ в этилацетате и ПИБ в гептане), являющихся дисперсионной средой разрабатываемых эмульсий. Показано, что повышение концентрации полимера в растворе приводит к изменению реологического поведения от ньютоновского к вязкоупругому, описываемому моделью Бюргера. Вязкоупругие свойства обусловлены наличием сетки зацеплений между макромолекулами. Реологические свойства обратных и двойных эмульсий в основном определяются свойствами внешней дисперсионной среды (т.е. раствора полимера). Повышение стабильности эмульсий коррелирует с увеличением концентрации полимера во внешней дисперсионной среде. Таким образом, вязкоупругость внешней дисперсионной среды – эффективный фактор стабилизации, кроме того, она предопределяет пленкообразующие свойства эмульсий. Обоснованы оптимальные концентрации полимеров в дисперсионной среде ($C > 34$ масс. %).

На основе дисперсионного анализа и тензиометрических измерений в условиях моделирования межфазных границ разрабатываемых эмульсий определены факторы их агрегативной устойчивости, в том числе и впервые полученных эмульгированных микроэмульсий и двойных $M_1/V/M_2$ эмульсий, содержащих обязательные компоненты трансдермальных систем, включая полимеры. Причем эмульгированные МЭ были получены практически в отсутствие энергозатрат.

Эмульгированные МЭ и двойные эмульсии (ДЭ) впервые использованы в качестве основы полимерных адгезивных матриц различной морфологии: от

микрорезервуарной до мозаичной, характеризующейся наличием микрообластей различной полярности. Все полимерные матрицы были визуально прозрачными (или слегка опалесцирующими), обладали хорошей адгезией к коже и имели сложную микрогетерогенную структуру, особенности которой определяются морфологией базовой эмульсии. Способность матриц выделять лекарство зависела от их структурных особенностей и содержания Лк. Сложная структура ДЭ открывают широкие возможности для инкорпорирования Лк, оно может находиться во всех фазах ДЭ и на высокоразвитых межфазных поверхностях (внутренней и внешней), что позволяет регулировать кинетику мембранного и трансдермального массопереноса, а также избегать нежелательной кристаллизации Лк в матрице.

Полимерные матрицы на основе ДЭ с полиакрилатом продемонстрировали пролонгированное (до 4–7 суток) трансдермальное выделение амлодипина с постоянной терапевтически обоснованной скоростью даже после длительного хранения. Для матриц на основе ДЭ с ПИБ и Ф характерен пролонгированный (до 7 суток) мембранный массоперенос лекарства с целевой скоростью.

Эмульсионный подход оказался универсальным, показана его эффективность для создания полимерных матриц для доставки гидрофильного белка лизоцима к поверхности кожи с сохранением его ферментативной активности. На основе прямых эмульсий разработаны полимерные матрицы с инкорпорированным белком, которые могут быть использованы для экспрессной доставки молекул белка (бактерицидные пластыри), а также в качестве темплатов для формирования нанокристаллов белка. Это представляет интерес как для медицинских целей, поскольку кристаллическая форма лучше, чем аморфная или растворенная, сохраняет физические и химические свойства, так и для детального исследования структуры белков. На основе ДЭ получены матрицы для пролонгированной доставки бактерицидного белка к поверхности кожи при сохранении его ферментативной активности.

ВЫВОДЫ

1. На основе детального анализа механизмов стабилизации и свойств жидкофазных дисперсных систем различной морфологии обоснована новая

коллоидно-химическая концепция, позволившая разработать микрогетерогенные полимерные матрицы для трансдермальной доставки липофильных лекарств, а также для доставки к поверхности кожи гидрофильных белков без потери ферментативной активности.

2. Разработаны экспериментальные и теоретические подходы, позволившие получить всестороннюю информацию о свойствах мицелл неионогенных ПАВ с солюбилизированными целевыми компонентами трансдермальных систем, подтвердившие эффективность мицелл в качестве носителей липофильных лекарств и усилителей проницаемости кожи в водной среде.

3. Получены макроскопически однофазные прямые микроэмульсии (МЭ), содержащие необходимые для трансдермального применения компоненты.

4. Установлены механизмы ингибирования оствальдова созревания – причины деградации миниэмульсий гептан/вода, что позволило разработать стабильные высококонцентрированные миниэмульсии, пригодные для инкорпорирования липофильных лекарств и гидрофильных бактерицидных белков.

5. Оптимизированы составы дисперсионных сред разрабатываемых эмульсионных систем на основе комплексного исследования реологических свойств растворов липофильных полимеров (адгезивов) в неполярных растворителях.

6. С использованием широкого круга физико-химических методов установлены факторы агрегативной устойчивости эмульгированных прямых микроэмульсий, обратных В/М и двойных $M_1/V/M_2$ эмульсий, содержащих обязательные компоненты трансдермальных систем; эти жидкофазные дисперсные системы получены в стабильном состоянии и использованы в качестве основы микрогетерогенных полимерных матриц для трансдермальной доставки липофильных лекарств.

7. На основе экспериментальных данных предложены и обоснованы два подхода к формированию ультрадисперсных полимерных матриц для быстрой и пролонгированной доставки на поверхность кожи бактерицидного глобулярного белка с сохранением его ферментативной активности: соответственно на базе эмульсий М/В и двойных эмульсий $M_1/V/M_2$, в водные фазы которых инкорпорирован белок.

8. Доказана взаимосвязь типов эмульсий, структурной организации полученных на их основе полимерных матриц и особенностей выделения липофильных Лк и бактерицидного белка с сохранением ферментативной активности, что позволяет регулировать целевые свойства матриц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chien Y.W. Advances in transdermal systemic medication // Transdermal controlled systemic medications. Ed. Chien Y.W. – New York: Marcel Dekker, 1976. – P.1–22.
2. Williams A. Transdermal and Topical Drug Delivery. – London: Pharmaceutical Press, 2003. – 242 p.
3. Cleary G.W. Transdermal delivery system: a medical rationale // Topical drug bioavailability, bioequivalence, and penetration. Eds. Shah V.P., Maibach H.I. – New York: Plenum Press, 1993. – P.17–68.
4. Hadgraft J. Dermal and transdermal delivery // Modified-released drug delivery technology. Eds. Rathbone M.J., Hadgraft J., Roberts M.S. – New York: Marcel Dekker Inc., 2003. – P.471–480.
5. Margetts L., Sawyer R. Transdermal drug delivery: principles and opioid therapy // Continuing Aducation in Anesthesia. Critical Care&Pain. – 2007. – V.7, No5. – P.171–176.
6. Dhiman S., Singh T.G., Rehni A.K. Transdermal patches: a recent approach to new drug delivery system // Int. J. of Pharmacy and Pharm. Sciences. – 2011. – V.3, No5. – P.26–34.
7. Patel D., Chaudhary S.F., Parmar B., Bhura N. Transdermal Drug Delivery System: A Review // Pharma Innovation. – 2012. – V.1, No4. – P.66–75.
8. Chien Y.W. Transdermal therapeutic systems // Controlled drug delivery: fundamentals and applications. Eds. Robinson J.L., Lee V.H.L. – New York: Marcel Dekker Inc., 1987. – P.523–552.
9. Huynh J., Aebi C. Transdermal Patches: To Cut or Not Cut // An Evidence Based Drug Therapy Resource. – 2008. – V.10, No8. – P.1–2.
10. Chein Y.W., Tojo K. Transdermal verapamil delivery device // Patent US 4690683. 1987.

11. Agudisch L.M.J., Rankin F.S. Pharmaceutical delivery device having a siloxane polymer matrix // Patent US 4814184. 1989.
12. Мюллер В. Трансдермальная терапевтическая система (ТТС) с фентанилом в качестве действующего вещества // Патент Российской Федерации: RU 2311908С2. 2002. Бюллетень изобретений №34 (10.12.2007).
13. Hadgraft J. Skin, the final frontier // Int. J. of Pharmaceutics. – 2001. – V.224, No1. – P.1–18.
14. Montagna W. The Structure and Function of Skin, 2nd edition. – New York: Academic Press, 1962. – 454 p.
15. Schaefer H., Redelmaier T.E. Structure and Dynamics of the skin barrier // Skin barrier. Principles of percutaneous absorption. Eds. by Schaefer H., Redelmaier T.E. – Basel: Karger, 1996. – P.1–42.
16. Morganti P., Ruocco E., Wolf R., Ruocco V. Percutaneous absorption and delivery systems // Clin. Dermatol. – 2001. – V.19, No4. – P.489–501.
17. Walters K.A., Roberts M.S. The structure and function of skin // Dermatological and Transdermal formulations. Ed. Walters K.A. – New York: Marcel Dekker Inc., 2002. – P.1–39.
18. Candi E., Schmidt R., Melino G. The cornified envelope: A model of cell death in the skin // Nature Rev., Molecular Cell Biology. – 2005. – V.6, No4. – P.329–340.
19. Moghimi H.R., Williams A.C., Barry B.W. Stratum corneum and barrier performance; a model lamellar structural approach // Percutaneous Absorption. Eds. Bronaugh R.L., Maibach H.I. – New York: Marcel Dekker, 1999. – P.515–553.
20. Naik A., Kalia Y.N., Gay R.H. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier functions // Pharmaceutical Science and Technology Today. – 2000. – V.3, No9. – P.318–326.
21. Lund W. The Pharmaceutical Codex. 12-th edition. – London: The Pharmaceutical press, 1994. – P.132–231.
22. Walters K.A. Transdermal drug delivery // Routes of drug administration. Eds. Florence A.T., Sabole E.G. – New York: Marcel Dekker, 1990. – P.80–132.
23. Barry B.W. Drug delivery routes in skin: a novel approach // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2002. – V.54, No1. – P.31–40.
24. Марголина А., Эрнандес Е. Новая косметология. – М.: Изд. Дом «Косметика и медицина», 2005. – Т.1. – 202 с.

25. Amsden B.G., Goosen M.F.A. Transdermal delivery of peptide and protein drugs: an overview // *AICHE Journal*. – 1995. – V.41, No8. – P.1972–1997.
26. Gay R.H., Hadgraft J. Percutaneous penetration enhancement: physicochemical considerations and implications for prodrug design // *Prodrugs: topical and ocular drug delivery*. Ed. Sloan K.B. – New York: Marcel Dekker Inc., 1992. – P.1–16.
27. Moser K., Kriwet K., Naik A., Kalia Y.N., Guy R. Passive skin penetration and its quantification in vitro // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* – 2001. – V.52, No2. – P.103–112.
28. Hueber F., Schaefer W., Wepierre J. Role of transdermal and transfollicular routes in percutaneous absorption of steroids: In vitro studies on human skin // *Skin Pharmacol.* – 1994. – V.7, No5. – P.237–244.
29. Delgado-Charro M.B., Guy R.H. Transdermal drug delivery // *Drug delivery and targeting: For pharmacists and pharmaceutical scientists*. Eds. Hillery A.M., Loyd A.W., Swarbrick J. – London: Harwood academic publication, 2002. – P.208–234.
30. Barry B.W. Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery // *Eur. J. Pharm.Sci.* – 2001. – V.14, No2. – P.101–114.
31. Hadgraft J. Percutaneous absorption: Possibilities and problems // *Int. J. Pharm.* – 1983. – V.16, No3. – P.255–270.
32. Barry B.W. Skin transport // *Dermatological formulations*. Ed. Barry B.W. – New York: Marcel&Dekker, 1983. – P.95–126.
33. Prausnitz M.R., Mitragotri S., Langer R. Current status and future potential of transdermal drug delivery // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2004. – V.3, No2. – P.115–124.
34. Selvam R.P., Singh A.K. , Sivakumar T. Transdermal drug delivery systems for antihypertensive drugs – A review // *Int. J. Pharm. Biomed. Res.* – 2010. – V.1, No1. – P.1–8.
35. Agrawal S.S., Munjal P. Permeation studies of atenolol and metoprolol tartrate from three different polymer matrices for transdermal delivery // *Indian J. Pharm. Sci.* – 2007. – V.69, No4. – P.535–539.
36. Leo A., Hansch C., Elkins D. Partition coefficients and their uses // *Chem. Rev.* – 1971. – V.71, No6. – P.525–616.
37. Sangster J. Octanol-water partition coefficients: fundamentals and physical chemistry // *Wiley Series in Solution Chemistry*. – Chichester: Johns Wiley & Sons Ltd., 1997. – V. 2. – 178 p.

38. Franz T.J. Percutaneous absorption: On the relevance of in vitro data // *J. Invest. Dermatol.* – 1975. – V.64, No3. – P.190–195.
39. Franz S. W. Instrumentation and methodology for in vitro skin diffusion cells // *Methodology for skin absorption*. Eds. Kemppainen B.W., Reifenrath W.G. – Boca Raton, Fla.: CRC Press, 1990. – P.35–59.
40. Watkinson A.C., Brain K.R. Basic Mathematical Principles in Skin permeation // *Dermatological and Transdermal Formulations*. Ed. Walters K. – New York: Marcel Dekker, 2002. – P.61–88.
41. Smith K.L. Penetrant characteristics influencing skin absorption // *Methods for skin absorption*. Eds. Kemppainen B.W., Reifenrath W.G. – Boca Raton, Fla.: CRC Press, 1990. – P.24–33.
42. Forster M., Bolzinger M.-A., Fessi Y., Briancon S. Topical delivery of cosmetics and drugs. Molecular aspects of percutaneous absorption and delivery // *Eur. J. Dermatol.* – 2009. – V.19, No4. – P.309–323.
43. Flynn G.L. Physiochemical determinants of skin absorption // *Principles of route-to-route extrapolation for risk assessment*. Eds. Gerity T.R., Henry C.J. – Amsterdam: Elsevier Science Publishing Co. Inc., 1990. – P.93–127.
44. Potts R.O., Guy R.H. Predicting skin permeability // *Pharm. Res.* – 1992. – V.9, No5. – P.663–669.
45. Bronaugh R.L., Barton C.N. Prediction of human percutaneous absorption with physiochemical data // *Health risk assessment through dermal and inhalation exposure and absorption of toxicants*. Eds. Wang R.G., Maibach H.I. – Boca Raton, FL: CRC Press, 1991. – 544 p.
46. Guy R.H., Hadgraft J. Physicochemical aspects of percutaneous penetration and its enhancement // *Pharmaceutical Research*. – 1988. – V.5, No12. – P.753–758.
47. Willams A.C., Barry B.W. Penetration Enhancers // *Adv. Drug Del. Rev.* – 2004. – V.56, No5. – P.603–618.
48. Flynn G.L., Stewart B. Percutaneous drug penetration: choosing candidates for transdermal development // *Drug Development Research*. – 1988. – V.13, No2–3. – P.169–185.
49. Barry B.W. Action of skin penetration enhancers – the lipid protein partitioning theory // *Int. J. of Cosmetic Science*. – 1988. – V.10, No5. – P.281–293.
50. Osborne D.W., Henke J.J. Skin penetration enhancers cited in the technical literature // *Pharmaceutical Technology*. – 1997. – V.21, No1. – P.58–66.

51. Trommer H., Neubert R.H.H. Overcoming the Stratum Corneum: the modulation of skin penetration // *Skin Pharmacol. Physiol.* – 2006. – V.19, No2. – P.106–121.
52. Sinha V. R., Kaur M. P. Permeation enhancers for transdermal drug delivery // *Drug Del. Ind. Pharm.* – 2000. – V.26, No11. – P.1131–1140.
53. Saroha K., Yadav B., Sharma B. Transdermal patch: a discrete dosage form // *Int. J. of Current Pharmaceutical Research.* – 2011. – V.3, No3. – P.98–108.
54. Barry B.W. Breaching the skin's barrier to drugs // *Nat. Biotechnol.* – 2004. – V.22, No2. – P.165–167.
55. Mbah C.J., Uzor P.F., Omeje E.O. Perspectives on Transdermal Drug Delivery // *J. Chem. Pharm. Res.* – 2011. – V.3, No3. – P.680–700.
56. Pathan I.B., Setty C.M. Chemical Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery Systems // *Tropical J. of Pharm. Research.* – 2009. – V.8, No2. – P.173–179.
57. Som I., Bhatia K., Yasir M. Status of surfactants as penetration enhancers in transdermal drug delivery // *J. Pharmacy Bioallied Sci.* – 2012. – V.4, No1. – P.2–9.
58. Güngör S., Özsoy Y. Systematic delivery of antihypertensive drugs via skin // *Therapeutic delivery.* – 2012. – V.3, No9. – P.1109–1116.
59. Patel A.A., Trivedi D.G., Bhatt J.K., Shah D.A. Transdermal patches: a technical note // *Int. J. of Pharmaceutical Innovations.* – 2012. – V.2, No2. – P.23–33.
60. Joshi S.C., Jasuja N.D. Enhancement of transdermal delivery system and antidiabetic approach: an overview // *Int. J. of Pharmacy.* – 2012. – V.2, No1. – P.129–141.
61. Шенфельд Н. Поверхностно-активные вещества на основе оксида этилена. – М.: Химия, 1982. – 748 с.
62. Davies J.T., Rideal E.K. *Interfacial phenomena.* – New York, London: Acad. Press, 1963. – 480 p.
63. Kalbitz J., Neubert R. Modulation of drug penetration in the skin // *Pharmazie.* – 1996. – V.51, No9. – P.619–637.
64. Prisada R., Dinu-Parvuz C. Modalities to enhance the transdermal penetration of therapeutics of topic usage // *Practica Pharmaceutica.* – 2012. – V.5, No1–2. – P.17–22.
65. Willams A.C., Barry B.W. Terpenes and the lipid-protein partitioning theory of skin penetration enyancers // *Pharm. Res.* – 1991. – V.8, No1. – P.17–24.

66. Kanikkannan N., Kandimalla K., Lamba S.S., Singh M. Structure-activity relationship of chemical penetration enhancers in transdermal drug delivery // *Curr. Med. Chem.* – 2000. – V.7, No6. – P.593–608.
67. Vávrová K., Hrabálek A., Doležal P., Šámalová L., Palát K., Zbutovská J., et.al. Synthetic ceramide analogues as skin permeation enhancers: structure-activity relationships // *Bioorg. Med. Chem.* – 2003. – V.11, No24. – P.5381–5390.
68. Casiraghi A., Grigoli M.D., Cilurzo F., Gennari C.G.M., Rossoni G., Minghetti P. The Influence of the Polar Head and the Hydrophobic Chain on the Skin Penetration Enhancement Effect of Poly(Ethylene Glycol) Derivatives // *AAPS Pharm. Sci. Tech.* – 2012. – V.13, No1. – P.247–253.
69. Lopez A., Llinares F., Cortell C., Herraes M. Comparative enhancer effects of Span 20 with Tween 20 and Azone on the in vitro percutaneous penetration of compounds with different lipophilicities // *Int. J. of Pharmaceutics.* – 2000. – V.202, No1–2. – P.133–140.
70. Mohammadi-Samani S., Jamshidzadeh A., Montaseri H., Rangbar-Zahedani M., Kianrad R. The effects of some permeability enhancers on the percutaneous absorption of lidocaine // *Pak. J. Pharm. Sci.* – 2010. – V.23, No1. – P.83–88.
71. Sheeba F.R., Giles D., S.K. Shivakumar Swamy S.K., Menaka T. Study on permeation enhancement of sparfloxacin from certain selected ointment bases // *Der. Pharmacia Lettre.* – 2012. – V.4, No4. – P.1115–1118.
72. Akhtar N., Rehman M.U., Khan H.M.S., Rasool F., Saeed T., Murtaza G. Penetration enhancing effect of polysorbate 20 and 80 on the in vitro percutaneous absorption of L-ascorbic acid // *Tropical J. of Pharmaceutical Research.* – 2011. – V.10, No3. – P.281–288.
73. Задымова Н.М., Ямпольская Г.П. Адсорбция поверхностно-активных веществ (ПАВ) на границах раздела фаз // *Практикум по коллоидной химии.* Ред. Куличихин В.Г.– М.: Вузовский учебник: ИНФРА-М, 2012. Гл. 2. С.35–80.
74. Мицеллообразование, солюбилизация и микроэмульсии. Ред. Миттел К. – М.: Мир, 1980. – 597 с.
75. Задымова Н.М., Ямпольская Г.П. Термодинамически устойчивые дисперсные системы // *Практикум по коллоидной химии.* Ред. Куличихин В.Г. – М.: Вузовский учебник: ИНФРА-М, 2012. Гл.6. С.141–172.

76. Devraj N.S., Bhatt D.C., Aqil A.M., A review: different generation approaches of transdermal drug delivery system // *J. Chem. Pharm. Res.* – 2010. – V.2, No4. – P.184–193.
77. Tyagi R.K., Chandra A., Singh D., Rahman M.A. Transdermal drug delivery system (TDDS): an overview // *Int. J. of Pharm. Sciences and Research.* – 2011. – V.2, No6. – P.1379–1388.
78. Kandavilli S., Nair V., Panchagnula R. Polymers in transdermal drug delivery systems // *Pharmaceutical Technology.* – 2002. – V.26, No1. – P.63–80.
79. Tiwary A.K., Sapra B., Jain S. Innovations in transdermal drug delivery: formulations and techniques // *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation.* – 2007. – V.1, No1. – P.23–36.
80. Shah S. Transdermal drug delivery technology revisited: recent advances // *Latest Reviews.* – 2008. – V.6, No5. – P.1–12.
81. Aggarwal G., Dhawan S. Development, Fabrication and Evaluation of Transdermal Drug Delivery System – A review // *Pharmaceutical Reviews (www.pharminfo.net).* – 2009. – V.7, No5. – P.1–27.
82. Gaur P. K., Mishra S., Purohit S., Dave K. Transdermal drug delivery system: a review // *Asian J. of Pharm. and Clinical Research.* – 2009. – V.2, No1. – P.14–20.
83. Мизина П.Г., Быков В.А., Настина Ю.И., Фоменко Е.А. Введение лекарственных веществ через кожу – достижения и перспективы (обзор) // *Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация.* – 2004. – №1. – С.176–183.
84. Kumar R., Philip A. Modified transdermal technologies: breaking the barriers of drug permeation via the skin. Review article // *Tropical J. of Pharm. Research.* – 2007. – V.6, No1. – P.633–644.
85. Sheindlin S. Transdermal drug delivery: past, present, future. Reflections Science in the cultural context // *Molecular Interventions.* – 2004. – V.4, No6. – P.308–312.
86. Rastogi V., Upadhyay P.P. A brief view on antihypertensive drugs delivery through transdermal patches // *Int. J. of Pharm. Sciences and Research.* – 2012. – V.3, No7. – P.1955–1970.
87. Mishra M., Muthuprasanna P., Suryaphabha K., Sobhitarani P., Satishbabu A., Chandiran I.C., Arunachalam G., Shalini S. Basics and Potential applications – A review // *Int. J. of Pharm. Tech. Research.* – 2009. – V.1, No4. – P.1354–1365.

88. Береговых В.В., Пятигорская Н.В., Прудкевич Ю.А., Кедик С.А., Трансдермальные терапевтические системы доставки лекарственных средств // Вестник МИТХТ. – 2012. – Т.7, №5. – С.17–22.
89. Handbook of Pressure-Sensitive Adhesives and Products. Applications of Pressure-Sensitive Products. Eds. Benedek I., Feldstein M.M. – Boca Raton: CRC Press, 2008. V.1–3. – 1100 p.
90. Ezhumalai K., Ilavarasan P., Mugundhan R.M., Sathiyaraj U., Rajalakshmi A.N. Transdermal patches in novel drug delivery system // Int. J. of Pharmacy and Technology. – 2011. – V.3, No2. – P.2402–2419.
91. Baichwal M.R. Advances in drug delivery systems. – Bombay: MSR Foundation, 1985. – P.136–147.
92. The properties of Selegiline – <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.24930.html>
93. Memisoglu-Bilensoy E., Sen M., Hincal A.A. Effect of drug physicochemical properties on in vitro characteristics of amphiphilic cyclodextrin nanospheres and nanocapsules // J. of Microencapsulation. – 2006. – V.23, No1. – P.59–68. 94.
94. The properties of Rotigotine. – <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.53406.html>
95. Trade marks of transdermal patches. – http://www.rxlist.com/script/main/srchcont_rxlist.asp?src=transdermal+patches&x=20&y=11
96. Emsam® – Selegiline transdermal patch. – <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=DA4321C8-4E28-4165-998A-5E00E4461AF6>
97. Exelon® – Rivastigmine transdermal patch – <http://www.rxlist.com/exelon-patch-drug.htm>
98. Arora P., Mukherjee B. Design, Development, Physicochemical, and In Vitro and In Vivo Evaluation of Transdermal Patches Containing Diclofenac Diethylammonium Salt // J. of Pharm. Sci. – 2002. – V.91, No.9. – P.2076–2089.
99. Androderm® – Testosterone transdermal patch – <http://www.rxlist.com/androderm-drug.htm>
100. Lidoderm® – Lidocaine transdermal patch – <http://www.rxlist.com/lidoderm-drug.htm>

101. Bracht S. Transdermal therapeutic system containing tulobuterol hydrochloride for administering the bronchodilator tulobuterol via the skin // Patent US 7056528. 2006.
102. Grond S., Radbruch L., Lehmann K.A. Clinical pharmacokinetics of transdermal opioids: focus on transdermal fentanyl // Clinical Pharmacokinetics. – 2000. – V.38, No1. – P.59–89.
103. Neupro® (Rotigotine transdermal system) – <http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm094861.htm>
104. Rastogi V., Upadhyay P.P. A brief view on antihypertensive drugs delivery through transdermal patches // Int. J. of Pharm. Sciences and Research. – 2012. – V.3, No7. – P.1955–1970.
105. Mishra M., Muthuprasanna P., Suryaprabha K., Sobhitarani P., Satishbabu A., Chandiran I.C., Arunachalam G., Shalini S. Basics and Potential applications – A review // Int. J. of Pharm. Tech. research. – 2009. – V.1, No4. – P.1354–1365.
106. Muller W. Therapeutic patch // Patent US 0202707 A1. 2004.
107. Задимова Н.М. Коллоидно–химические аспекты трансдермальной доставки лекарств (обзор) // Коллоидный журнал. – 2013. – Т.75, №5. – С.543–556.
108. Zadymova N.M. Colloidochemical Aspects of Transdermal Drug Delivery (Review) // Colloid Journal. – 2013. – V.75, No5. – P.491–503.
109. Щукин Е. Д., Перцов А.В., Амелина Е.А. Коллоидная химия. Учебник, 5-е изд. испр. – М: Высшая школа, 2007. – 444 с.
110. Шерман Ф. (Ред.). Эмульсии. – Ленинград: Химия, 1972. – 448 с.
111. Зоннтаг Г., Штрэнге К. Коагуляция и устойчивость дисперсных систем. Ред. Усьяров О.Г. – Л.: Химия, 1973. – 150 с.
112. Garti N. Double emulsions – scope, limitations and new achievements // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 1997. – V.123. – P.233–246.
113. Multiple Emulsions: Structure, Properties and Applications. Eds. Grossiord J.-L., Seiller M. – Paris: Éditions de Santé, 1998. – 351 p.
114. Garti N., Lutz R. Recent Progress in Double Emulsions // Emulsions: Structure Stability and Interactions. Ed. Petsev D.N. – Amsterdam: Elsevier, 2004. – 557 p.

115. Draxler J., Marr R. Emulsion liquid membranes part I: Phenomenon and industrial application // *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. – 1986. – V.20, No6. – P.319–329.
116. Bart H.J., Jüngling H., Ramaseder N, Marr R. Water and solute solubilization and transport in emulsion liquid membranes // *J. of Membrane Science*. – 1995. – V.102. – P.103–112.
117. Garti N, Benichou A. Recent developments in double emulsions for food applications // *Food emulsions*. Eds. Friberg S., Larsson K., Sjöblom J., 4th ed. – New York: Marcel Dekker, 2004. – P.353–412.
118. *Multiple Emulsions: Technology and Applications*. Ed. Aserin A. – Hoboken, New Jersey: J. Wiley & Sons Inc., 2008. – 354 p.
119. Garti N., Benichou A. Double emulsions for controlled-release applications – progress and trends // *Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology*. Ed. Sjöblom J. – New York: Marcel Dekker, 2001. – P.377–407.
120. Grossiord J.L., Seiller M. W/O/W multiple emulsions: A review of release mechanisms by break-up of the oily membrane // *STP Pharma Sciences*. – 2002. – V.11, No5. – P.331–339.
121. Okochi H., Nakano M. Preparation and evaluation of w/o/w type emulsions containing vancomycin // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2000. – V.45, No1. – P.5–26.
122. Marti-Mestres G., Nielloud F. Emulsions in Health Care Applications – An Overview // *Journal of Dispersion Science and Technology*. – 2002. – V.23, No1–3. – P.419–439.
123. Higachi H., Tabata N., Kondo K.H., Maeda Y., Shimizu M., Nakashima T., Setoguchi T. Size of lipid microdroplets effects results of hepatic arterial chemotherapy with an anticancer agent in water-in-oil-in-water emulsion to hepatocellular carcinoma // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* –1999. – V.289, No2. – P.816–819.
124. Sekine T., Yoshida K., Matsuzaki F., Yanaki T., Yamaguchi M. Stability of vitamin A in oil-in-water-in-oil-type multiple emulsions // *J. Amer. Oil Chem. Society*. – 1999. – V.76, No2. – P.195–200.
125. Gallarate M., Carlotti M.E., Trotta M., Bovo S. On the stability of ascorbic acid in emulsified systems for topical and cosmetic use // *International J. of Pharmaceutics*. – 1999. – V.188, No2. – P.233–241.

126. Uchida T., Yoshida K., Goto S. Preparation and characterization of polylactic acid microspheres containing water-soluble dyes using a novel w/o/w emulsion solvent evaporation method // *J. of Microencapsulation*. – 1996. – V.13, No2. – P.219–228.
127. Meng F.T., Ma G.Y., Liu Y.D., Qiu W., Su Z.G. Microencapsulation of bovine hemoglobin with high bio-activity and high entrapment efficiency using a W/O/W double emulsion technique // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. –2004. – V.33, No3–4. – P.177 –183.
128. Lee M.-H., Oh S.-G., Moon S.-K., Bae S.-Y. Preparation of silica particles encapsulating retinol using O/W/O multiple emulsions // *J. of Colloid and Interface Science*. – 2001. – V.240, No1. – P.83–89.
129. Hwang Y.-J., Oh C., Oh S.-G. Controlled release of retinol from silica particles prepared in O/W/O emulsion: The effects of surfactants and polymers // *J. of Controlled Release*. – 2005. – V.106, No3. – P.339–349.
130. Foster T., Dorfman K.D., Davis H. T. Giant biocompatible and biodegradable PEG–PMCL vesicles and microcapsules by solvent evaporation from double emulsion droplets // *J. of Colloid and Interface Science*. – 2010. – V.351, No1. – P.140–150.
131. Garti N., Lutz R. Double emulsions // *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*. Ed. Somasundaran P., 2nd edition. – New York, London: Taylor & Francis, 2006. – V.3. – P.1816–1845.
132. Jiao J., Rhodes D.G., Burgess D.J. Multiple emulsion stability: pressure balance and interfacial film strength // *J. of Colloid and Interface Science*. – 2002. – V.250, No2. – P.444–450.
133. Dickinson E. Double Emulsions Stabilized by Food Biopolymers // *Food Biophysics*. – 2011. – V.6, No1. – P.1–11.
134. Rosano H.L., Gandolfo F.G., Hidrot J.D.P. Stability of $W_1/O/W_2$ multiple emulsions: Influence of ripening and interfacial interactions // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 1998. – V.138, No1. – P.109–121.
135. Myers D. *Surfactant Science and Technology*, 2nd edition. – New York: VCH Publishers Inc., 1998. – 209 p.
136. Michaut F., Hebraud P., Perrin P. Amphiphilic polyelectrolyte for stabilization of multiple emulsions // *Polymer International*. – 2003. – V.52, No4. – P.594–601.
137. Florence A.T., Whitehill D. Stability and Stabilization of water-in-oil-in-water multiple emulsions // *Macro- and Microemulsions: Theory and Application*. Ed. Chan D.O. – Washington: ACS, 1985. – V.272. – P.359–380.

138. Ozer O., Muguet V., Roy E., Grossiord J.L., Seiller M. Stability study of W/O/W viscosified multiple emulsions // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2000. – V.26, No11. – P.1185–1189.
139. Ролдугин В.И. Физикохимия поверхности. – Долгопрудный: Издательский дом «Интеллект», 2008. – 568 с.
140. Kumar R., Kumar M.S., Mahadevan N. Multiple Emulsions: A Review. // *Int. J. of Recent Advances in Pharmaceutical Research*. – 2012. – V.2, No1. – P.9–19.
141. Mishra B., Pandit J.K. Prolonged realize of pentzocine from multiple O/W/O emulsions // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 1989. – V.15, No8. – P.1217–1230.
142. Laugel C., Baillet A., Youenang M. P., Marty J.P., Ferrier D. Oil–water–oil multiple emulsions for prolonged delivery of hydrocortisone after topical application: comparison with simple emulsions // *Int. J. of Pharmaceutics*. – 1998. – V.160. – P.109–117.
143. Laugel C., Rafidison P., Potard G., Agudisch L., Baillet A. Modulated release of triterpenic compounds from a O/W/O multiple emulsion formulated with dimethicones: infrared spectrophotometric and differential calorimetric approaches // *J. of Controlled Release*. – 2000. – V.63, No1–2. – P.7–17.
144. Cheng J., Pei S., Yue B. Synthesis and characterization of hollow zeolite microspheres with a mesoporous shell by O/W/O emulsion and vapor-phase transport method // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2008. – V.115, No3. – P.383–388.
145. Liu H., Ni Y. Fabrication of submicron Cu₂O hollow spheres in an O/W/O multiple emulsions // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering. Aspects*. – 2004. – V.235, No1–3. – P.79–82.
146. Sekine T., Yoshida K., Matsuzaki F., Yanaki T., Yamaguchi M. A novel method for preparing oil-in-water-in-oil type multiple emulsions using organophilic montmorillonite clay mineral // *J. of Surfactants and Detergents*. – 1999. – V.2, No3. – P.309–315.
147. Avendano-Gomez J.R., Grossiord J.L., Clause D. Study of mass transfer in oil–water–oil multiple emulsions by differential scanning calorimetry // *J. of Colloid and Interface Science*. – 2005. – V.290, No2. – P.533–545.
148. Pal R. Multiple O/W/O Emulsion Rheology // *Langmuir*. – 1996. – V.12, No9. – P.2220–2225.

149. Lima C.G., Pianovski A.R., Vilela A.F.G., da Silva K.K., Carvalho V.F.M., De Muis C.R., Machado S.R.P., and Ferrari M. O/W/O Multiple Emulsions Containing Amazon Oil: Babassu Oil (*Orbignya oleifera*) // *J. of Dispersion Science and Technology*. – 2010. – V.31, No5. – P.622–626.
150. Юрженко А.И. Физико-химическое исследование в области полимеризации углеводородов в эмульсиях // *Журнал общей химии*. – 1946. – Т.16, №8. – С.1171–1188.
151. Перегудова Л.Е., Воюцкий С.С. Сопряженное растворение бензола в растворе олеата натрия // *Коллоид. журн.* – 1948. – Т.10, №4. – С.309–316.
152. Воробьев Н.К., Гольдшмидт В.А., Карапетьянц М.Х. Практикум по физической химии. – Л., М.: Изд. Хим. лит., 1950. – 306 с.
153. Задымова Н.М., Цикурина Н.Н., Руделев Д.С., Потешнова М.В. Влияние тетраоксиэтилированного нонилфенола на свойства мицелл додекаоксиэтилированного нонилфенола в водной среде // *Коллоид. журн.* – 2004. – Т.66, №2. – С.175–182.
154. Zadymova N.M., Tsikurina N.N., Rudelev D.S., Poteshnova M.V. Influence of Tetraethoxylated Nonylphenol on the Properties of Dodecaethoxylated Nonylphenol Micelles in Aqueous Medium // *Colloid Journal*. – 2004. – V.66, No2. – P.146–152.
155. Schurtenberger P., Cavaco C. Polymer-like lecithin reverse micelles. 1. A light scattering study // *Langmuir*. – 1994. – V.10, No1. – P.100–108.
156. Эскин В.Е. Рассеяние света растворами полимеров и свойства макромолекул. – Л.: Наука, 1986. – 286 с.
157. Pike E.R., Pomery W.R.M., Vaughan J.M. Measurement of Rayleigh ratio for several pure liquids using a laser and monitored photon counting // *J. of Chem. Phys.* – 1975. – V.62, No15. – P.3188–3192.
158. Яминский И.В., Багров Д.В. Основы атомно-силовой микроскопии. – М.: НОУДПО «Институт АйТи», 2011. – 128 с.
159. Программа для анализа данных атомно-силовой микроскопии Gwyddion // <http://www.gwyddion.net>
160. Криштал М.М., Ясников И.С., Полуин В.И., Филатов А.М., Ульяненок А.Г. Сканирующая электронная микроскопия и рентгеноспектральный микроанализ в примерах практического применения. – М.: Техносфера, 2009. – 208 с.

161. Пугачевич П.П. Усовершенствованный газовый прибор с одним капилляром для измерения поверхностного натяжения // Журн. физ. химии. – 1962. – Т.36, № 5. – С.1107–1109.
162. Перцов А.В., Соболева О.А., Назаров В.Г., Проценко П.В. Избирательное смачивание в системе углеводородная жидкость/перфторуглеродная жидкость/твердое тело // Коллоидный журн. – 2008. – Т.70, №6. – С.812–815.
163. Шрамм Г. Основы практической реологии и реометрии. Пер. с англ. Лавыгина. Ред. Куличихин В.Г. – М.: КолосС, 2003. – 312 с.
164. Задымова Н.М., Кармашева Н.В., Потешнова М.В. Новый метод определения растворимости липофильных неионогенных ПАВ в воде // Коллоид. журн. – 2002. – Т.64, №4. – С.449–454.
165. Задымова Н.М., Цикурина Н.Н., Потешнова М.В. Спектрофотометрия прямых тонкодисперсных эмульсий перфторорганических соединений (ПФОС), полученных при ультразвуковом диспергировании, – новый метод определения солюбилизации ПФОС // Обработка дисперсных сред и материалов: междунар. периодич. сб. научных трудов. – Одесса: НПО «Вотум», 2001. – Вып.11. – С.195–200.
166. Zadymova N.M., Karmasheva N.V., Poteshnova M.V., Tsikurina N.N. New procedure for determining the solubility of lipophilic nonionic surfactants in water // Colloid Journal. – 2002. – V.64, No4. – P.400–405.
167. Задымова Н.М., Цикурина Н.Н., Потешнова М.В. Солюбилизация перфтордекалина в водных растворах додекаоксиэтилированного нонилфенола // Коллоид. журн. – 2003. – Т.65, №3. – С.347–351.
168. Zadymova N.M., Tsikurina N.N., Poteshnova M.V. Solubilization of Perfluorodecalin in Aqueous Solutions of Dodecaethoxylated Nonylphenol // Colloid Journal. – 2003. – V. 65, No 3. – P. 314–318.
169. Потешнова М.В., Задымова Н.М., Руделев Д.С. Влияние ароматического солюбилизата (толуола) на свойства мицелл Твин 80 в водной среде // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2004. – Т.45, №1, – С.64–72.
170. Потешнова М. В., Задымова Н.М. Прямые мицеллы и микроэмульсии в трехкомпонентной системе вода–толуол–Твин 80 // Коллоид. журн. – 2006. – Т.68, №2. – С.226–236.
171. Poteshnova M.V., Zadymova N.M. Normal Micelles and Oil-in-Water Microemulsions in a Water-Toluene-Tween 80 Ternary System // Colloid Journal. – 2006. – V.68, No2. – P.201–210.

172. Задымова Н.М., Цикурина Н.Н., Потешнова М.В. Свойства смешанных мицелл гидрофильного и липофильного оксиэтилированных нонилфенолов в водной среде // *Обработка дисперсных сред и материалов: сб. научных трудов.* – Одесса: НПО «Вотум», 2002. – Вып.12. – С.220–226.
173. Задымова Н.М. Влияние солюбилизации на свойства мицелл додекаоксиэтилированного нонилфенола в водной среде // *Структура и динамика молекулярных систем: Сб. статей.* – Йошкар-Ола – Уфа – Казань – Москва, 2009. – Вып. XVI, часть 2. – С.90–93.
174. Kantarci G., Ozguney I., Karasulu Y., Arzik S., Guneri T. Comparison of different water/oil microemulsions containing diclofenac sodium: preparation, characterization, release rate and skin irritation studies // *AAPS PharmSciTech.* – 2007. – V. 8, No 4. – Article 91.
175. Tavares L., Shevchuk I., Alfonso M., Marcenyak G., Valia K. Felodipine transdermal device and methods // *Patent US 7018649 B2.* March 28. 2006.
176. Buonocore G.G., Conte A., Corbo M.R., Sinigaglia M., Del Nobile M.A. Mono- and multilayer active films containing lysozyme as antimicrobial agent // *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* – 2005. – V.6, No4. – P.459–464.
177. Conte A., Buonocore G.G., Sinigaglia M., Del Nobile M.A. Development of immobilized lysozyme based active film // *J. of Food Engineering.* – 2007. – V.78, No3. – P.741–745.
178. Appendini P., Hotchkiss J.H. Immobilization of Lysozyme on Food Contact Polymers as Potential Antimicrobial Films // *Packaging Technology and Science.* – 1997. – V.10, No5. – P.271–279.
179. Березин И.В., Клесов А. А., Рабинович М. Л. Кинетика ферментативных реакций в гетерогенных системах. I. Кинетические закономерности расщепления бактериальных клеток *Micrococcus lysodeikticus* под действием лизоцима // *Биоорганическая химия.* – 1976. – Т.2, №5. – С.680–688.
180. Drug Bank database– <http://www.drugbank.ca/drugs/>
181. Zadymova N.M., Ivanova N.I. Tween 80–Based Mixed Micelles as Felodipine Carriers in Aqueous Medium // *Colloid Journal.* – 2013. – V.75, No2. – P.159–169.
182. Задымова Н.М., Иванова Н.И. Совместная солюбилизация липофильного лекарства амлодипина и глицерилмонолаурата в водных мицеллярных растворах Твин 80 // *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия.* – 2013. – Т.54, №2. – С.112–120.

183. Задымова Н.М., Аршакян Г.А. Ингибирование оствальдова созревания в миниэмульсиях гептан/вода // Коллоид. журн. – 2014. – Т.76, №1. – С.28–41.
184. Kerc J., Srcic S., Kofler B., Smid-Korbar J. Molar solubility of felodipine in different aqueous systems // *Int. J. Pharm.* – 1992 – V.81, No1. – P. R1–R4.
185. Salton M.R.J. Action of Lysozyme on gram-positive bacteria and the structure of cell walls // *Exposes annuels de biochimie medicale*. Eds. Boulanger P., Jayle M.F., Roche J. – Paris: Masson et Cie., 1966. – V. 27. – P. 35–43.
186. Maron E., Bonavida B. A sensitive immunoassay for human lysozyme in biological fluids // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1971. – V.229, No1. – P.273–275.
187. Proctor V.A., Cunningham F.E. The chemistry of lysozyme and its use as a food preservative and a pharmaceutical // *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 1988. – V.26, No4 – P.359–395.
188. Lesnierowski G., Cegielska-Radziejewska R. Potential possibilities of production, modification and practical application of lysozyme // *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* – 2012. – V.11, No3. – P.223–230.
189. Cantor C.R., Schimmel P.R. *Biophysical Chemistry, Part I. The Conformation of Biological Macromolecules.* – New York: W.H. Freeman and Company, 1980. – P.100–127.
190. Структура белков – <http://www.bioinfo.org.cn/book/biochemistry/chapt07/>
191. Cantor, C.R., Schimmel, P.R. *Biophysical chemistry: Techniques for the study of biological structure and function.* – New York: W.H. Freeman and Company, 1980. Vol. II. – P.590–641.
192. Söderlind E., Wollbradt M., von Corswant C. The usefulness of sugar surfactants as solubilizing agents in parenteral formulations // *Int. J. of Pharmaceutics.* – 2003. – V.252, No1. – P.61–71.
193. Ямпольская Г.П., Задымова Н.М., Тарасевич Б.Н., Еленский А.А. Исследование взаимодействия неионогенного поверхностно–активного вещества (Твин 80) с сывороточным альбумином оптическими методами // *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия.* – 2004. – Т.45, №6. – С.371–375.
194. Задымова Н.М. Взаимодействие бычьего сывороточного альбумина с неионогенным ПАВ Твин 80 в водных растворах: комплексообразование и ассоциация / Н.М. Задымова, Г.П. Ямпольская, Л.Ю. Филатова // *Коллоид. журн.* – 2006. – Т.68, №2. – С.187–197.

195. Zadymova N.M. Interaction of Bovine Serum Albumin with Nonionic Surfactant Tween 80 in Aqueous Solutions: Complexation and Association / N.M. Zadymova, G.P. Yampolskaya, L.U. Filatova // *Colloid Journal*. – 2006. – Vol.68, No2. – P.162–172.
196. Харлов А.Е., Филатова Л.Ю., Задымова Н.М., Ямпольская Г.П. // Черные пенные пленки, стабилизированные смесями бычьего сывороточного альбумина и неионогенного ПАВ (Твин 80) // *Коллоид. журн.* – 2007. – Т.69, №1. – С.124–130.
197. Harlov A.E., Filatova L.U., Zadymova N.M., Yampolskaya G.P. Black foam films, stabilized by Bovine Serum Albumin and nonionic surfactant (Tween 80) mixtures // *Colloid Journal*. – 2007. – V.69, No1. – P.117–123.
198. Потешнова М.В., Задымова Н.М., Куличихин В.Г. Структура смешанных мицелл Твин 80 и дифильного солюбилизатора лекарственного назначения в водной среде // *Структура и динамика молекулярных систем: Сб. статей.* – Йошкар-Ола – Уфа – Казань – Москва, 2009. – Вып. XVI. Часть 2. – С.94–97.
199. Zadymova N.M., Ivanova N.I. Mixed micelles as lipophilic drug (felodipine) carriers in aqueous medium // *IV International Conference on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics, 30 June–05 July 2013, Moscow, Russia: book of abstr.* – Moscow, 2013. – P.20–22.
200. Задымова Н.М., Аршакян Г.А., Иванова Н.И. Коллоидно-химические свойства глицерилмоноолеата как липофильного ПАВ // XIX Всероссийская конференция «Структура и динамика молекулярных систем». Яльчик–2012, Йошкар-Ола – Уфа – Казань – Москва: сб. тезисов докл. и сообщ. – Йошкар-Ола, 2012. – С.69.
201. Zapata R.B., Villa A.L., Montes de Correa C. Liquid–liquid equilibrium for the water + acetonitrile + limonene system at different temperatures // *J. Chem. Eng. Data*. – 2005. – V.50, No4. – P.1353–1356.
202. Fanum M., Al-Diyn W.S. Structural transition in system water/mixed nonionic surfactants / R (+) Limonene studied by electrical conductivity and self-diffusion-NMR // *J. of Dispersion Sci. and Technol.* – 2007. – V.28, No1. – P.165–174.
203. Hydroxypropyl Cellulose: Chemical and Physical Properties. Aqualon Product Booklet. – Wilmington: Hercules Inc., 2001. – 24 p.
204. Chang S.A., Gray D.G. The surface tension of aqueous hydroxypropyl cellulose solutions // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 1978. – V.67, No.2. – P.255–265.

205. Muguet V., Seiller M., Barratt G., Ozer O., Marty G.P., Grossiord J.L. Formation of shear rate sensitive multiple emulsions // *J. Controlled Release*. – 2001. – V.70, No1–2. – P.37–49.
206. Hwang Y.-J., Oh C., Oh S.-G. Controlled release of retinol from silica particles prepared in O/W/O emulsion: the effects of surfactants and polymers // *J. Control. Release*. – 2005. – V.106, No3. – P.339–349.
207. Kulichikhin V.G., Antonov S.V., Zadymova N.M. Skin Contact Pressure–Sensitive Adhesives // *Application of Pressure–sensitive products: handbook pressure–sensitive adhesives and products*. Eds. Benedek I., Feldstein M.M. – Boca Raton, London, New York: CPC Press, 2008. – P.5-1–5-31.
208. Nedberge D.E., Gale R.M., Crisologo N.M., Wen J., Imbert E.C., Luciano A. Silverberg E.N., Foreman P.B. Transdermal risperidone delivery system // *Pat. WO2007035942 A2*. 2007.
209. Vemula V.R., Lagishetty V., Lingala S. Solubility enhancement techniques // *Int. J. of Pharm. Sci. Review and Research*. – 2010. – V.5, No1. – P.41–51.
210. Shidne S. Solubilization of poorly soluble drugs: a review // *Pharmaceutical Reviews (www.pharminfo.net)*. – 2007. – V.5, No6.
211. Omray L.K., Kohli S., Khopade A.J., et al. Development of mesophasic microreservoir-based transdermal drug delivery system of propranolol // *Indian J. Pharm. Sci.* – 2008. – V.70, No5. – P.578–584.
212. Malmsten M. *Surfactants and Polymers in drug delivery*. – New York: Marcel Dekker, 2002. – 366 p.
213. Malmsten. M. Soft drug delivery systems // *Soft Matter*. – 2006. – V.2, No9. – P.760–769.
214. Rangel-Yagui C.O., Junior A.P., Tavares L.C. Micellar solubilization of drugs // *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* – 2005. – V.8, No2. – P.147–163.
215. Русанов А.И. Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ. – СПб.: Химия, 1992. – 280 с.
216. Edwards D.A., Luthy R.G., Liu Z. Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar nonionic surfactant solutions // *Environ. Sci. Technol.* – 1991. – V.25, No1. – P.127–133.
217. Alvares-Núñez F.A., Yalkowsky S.H. Relationship between polysorbate 80 solubilization descriptors and octanol-water partition coefficient of drug // *Int. J. Pharm.* – 2000. – V.200, No2. – P.217–222.

218. Alkhamis K.A., Allaboun H., Al-Momani W.Y. Study of the solubilization of glichazide by aqueous micellar solutions // *J. Pharm. Sci.* – 2003. – V.92, No4. – P.839–846.
219. Palma S., Manzo R.H., Allemandi D., et. al. Drug solubilization in ascorbyldecanoate micellar solutions // *Colloid Surf. A.* – 2003. – V.212, No2–3. – P.163–173.
220. Tommasini S., Calabro M.L., Raneri D., Ficarra, P. and Ficarra R. Combined effect of pH and polysorbates with cyclodextrines on solubilization of naringenin // *J. Pharm. and Biomed. Analysis.* – 2004. – V.36, No2. – P.327–333.
221. Rangel-Yaguil C.O., Hsu H.W., Junior P.A., et al. Micellar solubilization of ibuprofen – the influence of surfactant head on the extent of solubilization // *Braz. J. Pharm. Sci.* – 2005. – V.41, No2. – P.237–246.
222. Yiyun C., Jiepin Y. Solubilization of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the presence of Tween series surfactants // *Phys. and Chem. of Liquids.* – 2005. – V.44, No3. – P.249–256.
223. Ishii S., Ishikawa S, Mizuno N., Matsuoka K., Honda C., Endo K. Indomethacin solubilization induced shape transition in C_nE_7 ($n=14, 16$) nonionic micelles // *J. of Coll. and Int. Sci.* – 2008. – V.317, No1. – P.115–120.
224. Bhat P.A., Dar A.A., Rather G.M. Solubilization capabilities of some cationic, anionic, and nonionic surfactants toward the poorly water-soluble antibiotic drug erythromycin // *J. Chem. Eng. Data.* – 2008. – V.53, No6. – P.1271–1277.
225. Hsu C.H., Cui Z., Mumper R.J., Jay M. Micellar Solubilization of Some Poorly Soluble Antidiabetic Drug // *AAPS Pharm. Sci. Tech.* – 2008. – V.9, No2. – P.939–943.
226. Bhat P.A., Rather G.M., Dar A.A. Effect of Surfactant Mixing on Partitioning of Model Hydrophobic Drug, Naproxen, between Aqueous and Micellar Phases // *J. Phys. Chem. B.* – 2009. – V.113, No4. – P.997–1006.
227. Ong J.T.H., Manoukian E. Micellar solubilization of timebesone acetate in aqueous and aqueous propylene glycol solutions of nonionic surfactant // *Pharm. Res.* – 1988. – V.3, No11. – P.704–708.
228. Attwood D., Florence A.T. *Physicochemical Principles of Pharmacy*, 3rd ed. – London: MacMillan Press, 2003. – 564 p.
229. Rosen M.J. *Surfactants and interfacial phenomena*, 3rd ed. – New York: Wiley, 2004. – 455 p.

230. Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement. Eds. Walters K.A., Hadgraft J. – New York: Marcel Dekker, 1993. – 456 p.
231. Debay P. Light scattering in soap solutions // *Annales of the New York Academy of Science*. – 1949. – V.51, No4. – P.575–592.
232. Nolan S.L., Phillips R.J., Cotts P.M., Dungan S.R. Light Scattering Study on the Effect of Polymer Composition on the Structural Properties of PEO–PPO–PEO Micelles // *J. Colloid Interface Sci.* – 1997. – V.191, No2. – P.291–302.
233. Задымова Н.М., Иванова Н.И. Смешанные мицеллы на основе Твин 80 как носители фелодипина в водной среде // *Коллоид. журн.* – 2013. – Т.75, №2. – С.179–190.
234. Zadymova N.M., Ivanova N.I Joint Solubilizationj of Lipophilic Drug Amlodipine and Glyceryl Monolaurate in Aqueous Micellar Solutions of Tween 80 // *Moscow University Chemistry Bulletin. Allerton Press Inc. (United States)*. – 2013. – V.68, No2. – P.110–117.
235. Задымова Н.М. Влияние солюбилизаторов различной природы на свойства прямых мицелл неионогенных ПАВ // XII Всероссийская конференция «Структура и динамика молекулярных систем. Яльчик – 2005», 27 июня – 2 июля 2005, Йошкар-Ола – Уфа – Казань – Москва: сб. тезисов докл. и сообщ. – Йошкар-Ола, 2005 – С.81.
236. Nonionic surfactants. Ed. Shick M.J. – New York: Marcel Dekker, 1967. – 569 p.
237. Schott H. Hydration of micellar nonionic detergents // *J. Colloid Interface Sci.* – 1967. – V.24, No2. – P.193–198.
238. Мукерджи П., Кардинал Дж.Р., Десаи Н.Р. Природа локального микроокружения в водных мицеллярных системах // *Мицеллообразование, солюбилизация и микроэмульсии*. Ред. Миттел К. – М.: Мир, 1980. – С.142–162.
239. Bhat P.A., Rather G.M, Dar A.A. Effect of Surfactant Mixing on Partitioning of Model Hydrophobic Drug, Naproxen, between Aqueous and Micellar Phases // *J. Phys. Chem. B*. – 2009. – V.113, No4. – P.997–1006.
240. Mali C.S., Chavan S.D., Kanse K.S., Kumbhurkhane A.C., Mehrotra S.C. Dielectric relaxation of poly ethylene glycol-water mixtures using time domain technique // *Indian J. Pure and Applied Physics*. – 2007. – V.45, No5. – P.476–481.
241. Ajaya B., Kumar S.S. Effects of Concentration and Relative Permittivity on the Transport Properties of Sodium Chloride in Pure water and Ethanol-Water Mixed

- Solvent Media // Research Journal of Chemical Sciences. – 2011. – V.1, No6. – P.48–52.
242. Yilmaz H. Excess Properties of Alcohol – Water Systems at 298.15 K // Turk. J. Phys. – 2002. – V.26, No3. – P.243–246.
243. Excess volumes and relative permittivity increments of $\{x\text{H}_2\text{C}=\text{CHCO}_2\text{CH}_3+(1-x)\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$ ($n = 5, 6, 7, 10, \text{ and } 12$)} // J. Chem. Thermodynamics. – 1998. – V.30, No8. – P.929–938.
244. Høiland H., Blokhuis A.M. Solubilization in Aqueous Surfactant Systems // Handbook of Surface and Colloid Chemistry. Ed. Birdi K.S. – Boca Raton: CRC Press, 2008. – Chapter 8. – P.379–414.
245. Edwards D.A., Luthy R.G., Liu Z. Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar nonionic surfactant solutions // Environ. Sci. Technol. – 1991. – V.25, No1. – P.127–133.
246. Tanford C. The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes. – New York: John Wiley & Sons Inc., 1973. – 208 p.
247. Teberekides V.I., Sigalas M.P. Theoretical study of hydrogen bond interactions of felodipine with polyvinylpyrrolidone and polyethyleneglycol // J. of Molecular Structure: THEOCHEM. – 2007. – V.803, No1–3. – P.29–38.
248. Langmuir I., Shaefer V. The Effect of Dissolved Salts on Insoluble Monolayers // J. Amer. Chem. Soc. – 1937. – V.59, No11. – P.2400–2414.
249. Solans C., Kunieda H (Eds). Industrial Application of Microemulsions. Marcel Dekker Inc. New York, 1997. 424 p. 01
250. Patel M.R. Microemulsions: As Novel Drug Delivery Vehicle // Latest Reviews. – 2007. – V.5, No6. – P.1–17. (<http://www.pharmainfo.net/reviews/microemulsions>).
251. Lawrence M.J. Surfactant systems: their use in drug delivery // Chem. Soc. Rev. – 1994. – V.23, No6. – P.417–423.
252. Malmsten M. Microemulsions in pharmaceuticals // Handbook of Microemulsion Science and Technology. Eds. Kumar P, Mittal K.L. – New York: Marcel Dekker, 1999. – P.755–771.
253. Lawrence M.J., Rees G.D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2000. – V.45, No1. – P.89–121.
254. Gasco M.R. Microemulsions in the Pharmaceutical Field: Perspectives and Applications // Handbook of Microemulsion Science and Technology. Eds. Kumar P, Mittal K.L. – New York: Marcel Dekker, 1999. – P.97–121.

255. Paul B.K., Moulik S.P. Uses and Applications of Microemulsions // *Current Science*. – 2001. – V.80, No8. – P.990–1001.
256. Kreilgaard M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery // *Adv. Drug. Delivery Rev.* – 2002. – V.54, Suppl 1. – P.S77–S98.
257. Lee P.J., Langer R., Shastri V.P. Novel microemulsion enhancer formulation for simultaneous transdermal delivery of hydrophilic and hydrophobic drugs // *Pharm. Res.* – 2003. – V.20, No2. – P.264–269.
258. Sintov A.C., Shapiro L. New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration in vitro and cutaneous drug bioavailability in vivo // *J. Control Release*. – 2004. – V.95, No2. – P.173–183.
259. Kogan A., Garti N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2006. – V.123–126. – P.369–385.
260. Santos P., Watkinson A.C., Hadgraft J., Lane M.E. Application of Microemulsions in Dermal and Transdermal Drug Delivery // *Skin Pharmacol. Physiol.* – 2008. – V.21, No5. – P.246–259.
261. Heuschkel S., Goebel A., Neubert R.H.H. Microemulsions – modern colloidal carrier for dermal and transdermal drug delivery // *J. Pharm, Sci.* – 2008. – V.97, No2. – P.603–631.
262. Azeem A., Khan Z.I., Aqil M., Ahmad F.J., Khar R.K., Talegaonkar S. Microemulsions as a Surrogate Carrier for Dermal Drug Delivery // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2009. – V.35, No5. – P.525-547.
263. Hoar T.P, Schulman J.H. Transparent water-in-oil dispersions: The oleophathic hydromicelle // *Nature*. – 1943. – V.152, No3847. – P.102–103.
264. Schulman J.H., Stoeckenius W., Prince L.M. Mechanism of Formation and Structure of Micro Emulsions by Electron Microscopy // *J. Phys. Chem.* – 1959. – V.63, No10. – P.1677–1680.
265. Danielsson I., Lindman B. The definition of microemulsion // *Colloid Surface*. – 1981. – V.3, No4. – P.391–392.
266. Scriven L.E. Equilibrium bicontinuous structure // *Nature*. – 1976. – V.263, No5573. – P.123–125.
267. Микроэмульсии. Структура и динамика. Ред. Фриберг С.Е., Боторель П. – М.:Мир, 1990. – 320 с.
268. Moulik S.P., Paul B.K. Structure, Dynamics and Transport Properties of Microemulsions // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 1998. – V.78, No2. – P.99–195.

269. Ruckenstein E., Chi J.C. Stability of Microemulsions // J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2. – 1975. – V.71. – P.1690–1707.
270. Nagarajan R., Ruckenstein. E. Molecular Theory of Microemulsions // Langmuir. – 2000. – V.16, No16. – P.6400–6415.
271. Kegel W.K., Overbeek J.T.G., Lekkerkerker H.N.W. Thermodynamics of microemulsions // Handbook of Microemulsion Science and Technology. Eds. Kumar P., Mittal K.L. – New York: Marcel Dekker, 1999. – P.13–44.
272. Shinoda K., Kunieda H. J. Condition to produce so-called microemulsions: factors to increase the mutual solubility of oil and water by solubilizer // J. Colloid Interface Sci. – 1973. – V. 42, No2. – P.381–387.
273. Shinoda K., Friberg S.E. Microemulsions: colloidal aspects // Adv. Colloid Interface Sci. – 1975. – V.4, No4. – P.281–300.
274. Shinoda K., Kunieda H.J. How to formulate microemulsions with less surfactants // Microemulsions: Theory and practice. Ed. Prince L.M. – New York: Academic Press, 1977. – P.57–90.
275. Kunieda H., Friberg S.E. Critical phenomena in surfactant/water/oil system. Basic study on the correlation between solubilization, microemulsion, and ultralow interfacial tensions // Bull. Chem. Soc. Japan. – 1981. – V.54, No4. – P.1010–1014.
276. Kunieda H.J., Shinoda K. Phase behavior in systems of nonionic surfactant/water/oil around the hydrophile-lipophile- balance-temperature (HLB-temperature) // J. Dispersion Sci. Technol. – 1982. – V.3, No3. – P.233–244.
277. Poteshnova M.V., Zadymova N.M. Spontaneous Formation of Toluene microemulsions in nonionic surfactant aqueous solutions // Proceedings of Symposium “Lipid and Surfactant Dispersed Systems. Fundamentals, Design, Formulation, Production”. Moscow, 1999. – P.123–124.
278. Потешнова М.В., Задымова Н.М. Микроэмульгирование толуола в водных растворах неионогенного ПАВ Твин 80 при различных температурах // Вестник Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. – 2002. – Т.43, №5. – С.306–310.
279. Потешнова М.В., Задымова Н.М., Григорьев Е.В. Свойства прямых микроэмульсий в трехкомпонентной системе Твин 80–толуол–вода // Вестник Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. – 2004. – Т.45, №3. – С.195–203.
280. Zulauf M., Eicke H.F. Inverted micelles and microemulsions in the ternary system H₂O/Aerosol OT/Isooctane as Studied by Photon Correlation Spectroscopy // J. Phys. Chem. – 1979. – V.83, No4. – P.480–486.

281. Winsor P.A. Hydrotrophy, Solubilization and Related Emulsification Processes // Trans. Faraday Soc. – 1948. – V.44, No6. – P.376–398.
282. Winsor P.A. Solvent Properties of Amphiphile Compounds. – London: Butterworth Sci. Pubs., 1954. – 207 p.
283. Kunieda H., Asaoka H., Shinoda K. Two types of surfactant phases and four coexisting liquid phases in a water/nonionic surfactant/triglyceride/hydrocarbon system // J. Phys. Chem. – 1988. – V.92, No1. – P.185–189.
284. Роббинс М.Л. Теория фазового состояния микроэмульсий // Мицеллообразование, солубилизация и микроэмульсии. Ред. Миттел К. – М.: Мир, 1980. – С.397–439.
285. Kabalnov A., Lindman B., Olsson U., Piculell L., Thuresson K., Wennerstrom H. Microemulsions in Amphiphilic and Polymer-Surfactant Systems // Colloid Polym. Sci. – 1996. – V.274, No4. – P.297–308.
286. Moulik S.P., Rakshit A.K. Physicochemistry and Applications of Microemulsions // J. Surface Sci. Tecnology. – 2006. – V.22, No3–4. – P.159–186.
287. Холмберг К., Йёнссон Б., Кронберг Б., Линдман Б. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах. Пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 528 с.
288. Spermath A., Aserin A., Garti N. Fully dilutable microemulsions embedded with phospholipids and stabilized by short-chain organic acids and polyols // J. Colloid Int. Sci. – 2006. – V.299, No2. – P.900–909.
289. Spermath A., Aserin A., Ziserman L., Danino D., Garti N. Phosphatidylcholine embedded microemulsions: Physical properties and improved Caco-2 cell permeability // J. Controlled Release. – 2007. – V.119, No3. – P. 279–290.
290. Kreilgaard M., Pedersen E.J., Jaroszewski J.W. NMR characterisation and transdermal drug delivery potential of microemulsion systems // J. Control. Release. – 2000. – V.69, No3. – P.421–433.
291. Carlfors J., Blute I., Schmidt V. Lidocaine in Microemulsions: a Dermal Delivery system // J. Dispers. Sci. Technol. – 1991. – V.12, No5–6. – P.467–482.
292. Olsson U., Shinoda K., Lindman B. Change of the Structure of Microemulsions with the Hydrophile-Lipophile Balance of Nonionic Surfactant as Revealed by NMR Self-diffusion Studies // J. Phys. Chem. – 1986. – V.90, No17. – P.4083–4088.
293. Podlogar F., Gasperlin M., Tomsic M., Jamnik A., Rogac M.B. Structural characterisation of water-Tween 40 / Imwitor 308-isopropyl myristate

- microemulsions using different experimental methods // *Int. J. Pharm.* – 2004. – V.276, No1–2. – P.115–128.
294. Rushforth D.S., Sanchez-Rubio M., Santos-Vidals L.M., Wormuth K.R., Kaler E.W., Cuevas R., Puig J.E. Structural study of one-phase microemulsions // *J. Phys. Chem.* – 1986. – V.90, No25. – P.6668–6673.
295. Kantarci G., Ozguney I., Karasulu H.Y., Arzik S., Guneri T. Comparison of Different Water/Oil Microemulsions Containing Diclofenac Sodium: Preparation, Characterization, Release Rate, and Skin Irritation Studies // *AAPS Pharm. Sci. Tech.* – 2007. – V.8, No4. – Article 91. E1–E7.
296. Pieruschka P., Marcelja S. Monte Carlo Simulation of Curvature-elastic Interfaces // *Langmuir.* – 1994. – V.10, No2. – P.345–350.
297. Ruth H.S., Attwood D., Ktistis G., Taylor S.J. Phase Studies and Particle Size Analysis of Oil-in-Water Phospholipid Microemulsions // *Int. J. Pharm.* – 1995. – V.116, No2. – P.253–261.
298. Agrawal O.P., Agrawal S. An Overview of New Drug Delivery System: Microemulsions // *Asian J. of Pharm. Science & Technology.* – 2012. – V.2, No1. – P.5–12.
299. Heuschkel S., Goebel A., Neubert R.H.H. Microemulsions – Modern Colloidal Carrier for Dermal and Transdermal Drug Delivery // *J. Pharm. Sci.* – 2008. – V.97, No2. – P.603–631.
300. Kreilgaard M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery // *Adv. Drug Delivery. Rev.* – 2002. – V.54, Suppl 1. – P.S77–S98.
301. Junyaprasert V.B., Boonme P., Songkro S., Krauel K., Rades T. Transdermal Delivery of Hydrophobic and Hydrophilic Local Anesthetics from o/w and w/o Brij 97-based Microemulsions // *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* – 2007. – V.10, No3. – 288–298.
302. Spermath A., Aserin A., Sintov A.C., Garti N. Phosphatidylcholine embedded micellar systems: Enhanced permeability through rat skin // *J. Colloid Int. Sci.* – 2008. – V.318, No2. – P.421–429.
303. Li P.J., Langer R., Shastri V.P. Novel Microemulsion Enhancer Formulation for Simultaneous Transdermal Delivery of Hydrophilic and Hydrophobic Drugs // *Pharm. Research.* – 2003. – V.20, No2. – P.264–269.
304. Gupta S., Moulik S.P., Lala S., Basu K., Sanyal S.K., Datta S. Designing and Testing of an Effective Oil-in-Water Microemulsion Drug Delivery System for In Vivo Application // *Drug Delivery.* – 2005. – V.12, No5. – P. 267–273.

305. Boltri L., Morel S., Trotta M., Gasco M.R. In vitro transdermal permeation of nifedipine from thickened microemulsions // *J. Pharm. Belg.* – 1994. – V.49, No4. – P.315–320.
306. Trotta M., Morel S., Gasco M.R. Effect of oil phase composition on the skin permeation of felodipine from o/w microemulsions // *Pharmazie.* – 1997. – V.52, No1. – P.50–53.
307. Zhao J.-H., Ji L., Wang H., Chen Z.-Q., Zhang Y.-T., Liu Y., Feng N.-P. Microemulsion-based Novel Transdermal Delivery System of Tetramethylpyrazine: Preparation and Evaluation in Vitro and in Vivo // *Int. J. of Nanomedicine.* – 2011. – V.6. – P.1611–1619.
308. Yuan J.S., Ansari M., Samaan M., Acosta E. Linker-based Lecithin Microemulsions for Transdermal Delivery of Lidocaine // *Int. J. Pharm.* – 2008. – V.349, No1–2. – P.130–143.
309. Podlogar F., Rogac B.M., Gasperlin M. The Effect of Internal Structure of Selected Water–Tween 40–Imvitor 308–IPM Microemulsions of Ketoprofene Release // *Int. J. Pharm.* – 2005. – V.302, No1–2. – P.68–77.
310. Dreher F., Walde P., Walther P., Wehrli E. Interaction of Lecithin Microemulsion Gel with Human Stratum Corneum and Its Effect on Transdermal Transport // *J. Controlled Release.* – 1997. – V.45, No2. – P.131–140.
311. Lee E.-A., Balakrishnan P., Song C.K., Choi J.-H., Noh G.Y., Park C.-G, Choi A.-J., Chung S.-J, Shim C.-K., Kim D.-D. Microemulsion-based Hydrogel Formulation of Itraconazole for Topical Delivery // *J. of Pharm. Investigation.* – 2010. – V.40, No5. – P.305–311.
312. Zhu W., Guo C., Yu A., Gao Y., Cao F., Zhai G.X. Microemulsion-based Hydrogel Formulation of Penciclovir for topical delivery // *Int. J. Pharm.* – 2009. – V.378, No1–2. – P.52–58.
313. Sintov A., Transdermal drug delivery System. Israeli Patent Application. – 2002. №150334.
314. Shi J., Cong W., Wang Y., Liu Q, Luo G. Microemulsion-based patch for transdermal delivery of huperzine A and ligastrazine phosphate in treatment of Alzheimer`s disease // *Drug Development and Industrial Pharmacy.* – 2012. – V.38, No6. – P.752– 761.
315. Garti N., Yaghmur A., Leser M.E., Clement V., Watzke H.J. Improved oil solubilization in oil/water food grade microemulsions in the presence of polyols and ethanol // *J. Agric. Food Chem.* – 2001. – V.49, No5. – P.2552–2562.

316. Mbah C.J., Uzor P.F., Omeje E.O. Perspectives on Transdermal Drug Delivery // *J. Chem. Pharm. Research.* – 2011. – V.3, No3. – P.680–700.
317. Задымова Н.М. Микроэмульсия с фелодипином (липофильное лекарство) как основа микродоменов, инкорпорированных в полимерные матрицы для трансдермального применения // XX Всероссийская конференция «Структура и динамика молекулярных систем». 24–29 июня 2013, Йошкар-Ола – Уфа – Казань – Москва: сб. тезисов докл. и сообщ. – Йошкар-Ола, 2013. – С.56.
318. Static Dielectric Constants of Pure Liquids and Binary Liquid Mixtures. http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-75506-7_328
319. Evans D.F.; Miller D.D. Organized Solutions and Their Manifestations in Polar Solvents // *Organized Solutions: Surfactants in Science and Technology.* Eds. Friberg S.E., Lindman B. – New York: Marcel Dekker Inc., 1992. – V.44. – P.33–45.
320. Seguin C., Eastoe J., Heenan R.K., Grillo I. SANS studies of the effects of surfactant head group on aggregation properties in water/glycol and pure glycol systems // *J. Colloid Interface Sci.* – 2007. – V.315, No2. – P.714–720.
321. Djordjevic L., Primorac M., Stupar M., Krajisnik D. Characterization of caprylocaproyl macrogolglycerides based microemulsion drug delivery vehicles for an amphiphilic drug // *Int. J. Pharm.* – 2004. – V.271, No1. – P.1–19.
322. Ambade K.W., Jadhav S.L., Gambhire M.N., Kurmi S.D., Kadam V.J., Jadhav K.R. Formulation and evaluation of flurbiprofen microemulsion // *Curr. Drug Deliv.* – 2008. – V.5, No1. – P.32–41.
323. Trotta M., Ugazio E., Peira E., Pulitano C. Influence of ion pairing on topical delivery of retinoic acid from microemulsions // *J. Control. Release.* – 2003. – V.86, No2–3. – P.315–321.
324. Amselem S., Friedman D. Submicron emulsions as drug carriers for topical administration // *Submicron Emulsions in Drug Targeting and Delivery.* Ed. Benita S. – Amsterdam: Hardwood Academic Publ., 1998. – P.153–174.
325. Benita S. Design and evaluation of submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration // *Submicron Emulsions in Drug Targeting and Delivery.* Ed. Benita S. – Amsterdam: Hardwood Academic Publ., 1998. – P.119–152.
326. Задымова Н.М., Потешнова М.В., Куличихин В.Г Свойства двойных эмульсий масло₁/вода/масло₂, содержащих липофильный акриловый полимер // *Коллоид. журн.* – 2012. – Т.74, №5. – С.563–575.

327. Higuchi W.J., Misra J. Physical degradation of emulsions via the molecular diffusion route and the possible prevention thereof // *J. of Pharm. Sci.* – 1962. – V.51, No5. – P.459–466.
328. Davis S.S., Smith A.L. The Influence of the Disperse Phase on the Stability of Oil-in-Water Emulsions // *Theory and Practice of Emulsion Technology*. Ed. Smith A.L. – London, New York: Acad. Press, 1976. – P.325–346.
329. Ugelstad J., Mørk P.C. Swelling of oligomer-polymer particles. New methods of preparation // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 1980. – V.13, No1–2. – P.101–140.
330. Кабальнов А.С., Перцов А.В., Щукин Е.Д. Приложение теории Лифшица-Слезова к переконденсации прямых эмульсий // *Коллоид. журн.* – 1984. – Т.46, №6. – С.1108–1111.
331. Kabalnov A.S., Shchukin E.D. Ostwald ripening theory: applications to fluorocarbon emulsion stability // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 1992. – V.38. – P.69–97.
332. Taylor P. Ostwald ripening in emulsions // *Colloids Surf. A.* – 1995. – V.99, No2–3. – P.175–185.
333. Taylor P. Ostwald ripening in emulsions // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 1998. – V.75, No2. – P.107–163.
334. Лифшиц И.М., Слезов В.В. О кинетике диффузионного распада пересыщенных твердых растворов // *Журн. эксперим. теор. физики.* – 1958. – Т.35, №2. – С.479–485.
335. Lifshitz I.M., Slyozov V.V. The kinetics of precipitation from supersaturated solid solutions // *J. Phys. Chem. Solids.* – 1961. – V.19, No1–2. – P.35–50.
336. Wagner C.Z. Theorie der Alterung von Niederschlagen durch Umlosen // *Z. Elektrochemie.* – 1961. – V. 65, No7–8. – P.581–591.
337. De Smet Y., Deriemaeker L., Parloo E., Finsy R. On the Determination of Ostwald Ripening Rates from Dynamic Light Scattering Measurements // *Langmuir.* – 1999. – V.15, No7. – P.2327–2332.
338. Welin-Berger K., Bergenstahl B. Inhibition of Ostwald ripening in local anesthetic emulsions by using hydrophobic excipients in the disperse phase // *Int. J. Pharm.* – 2000. – V.200, No2. – P.249–260.
339. Ee S.L., Duan X., Liew J., Nguyen Q.D. Droplet size and stability of nano-emulsions produced by the temperature phase inversion method // *Chem. Eng. J.* – 2008. – V.140, No3 – P.626–631.

340. Henry J.V.L., Fryer P.J., Frith W.J., Norton I.T. Emulsification mechanism and storage instabilities of hydrocarbon-in-water sub-micron emulsions stabilised with Tweens (20 and 80), Brij 96v and sucrose monoesters // *J. Colloid Interface Sci.* – 2009. – V.338, No1. – P.201–206.
341. Zeeb B., Gibis M., Fischer L., Weiss J. Influence of interfacial properties on Ostwald ripening in crosslinked multilayered oil-in-water emulsions // *J. Colloid Interface Sci.* – 2012. – V.387, No1. – P.65–73.
342. Izquierdo P., Esquena J., Tadros T.F., Dederen J.C., Feng J., Garsia-Celma M.J., Azemar N., Solans C. Phase Behavior and Nano-emulsion Formation by the Phase Inversion Temperature Method // *Langmuir.* – 2004. – V.20, No16. – P.6594–6598.
343. Tadros T., Izquierdo P., Esquena J., Solans C. Formation and stability of nano-emulsions // *Adv. Colloid and Interface Sci.* – 2004. – V.108–109. – P.303–318.
344. Izquierdo P., Feng J., Esquena J., Tadros T.F., Dederen J.C., Garsia-Celma M.J., Azemar N., Solans C. The influence of surfactant mixing ratio on nano-emulsion formation by the pit method // *J. Colloid Interface Sci.* – 2005. – V.285, No1. – P.388–394.
345. Kabalnov A.S., Pertzov A.V., Shchukin E.D. Ostwald ripening in emulsions: I. Direct observations of Ostwald ripening in emulsions // *J. Colloid Interface Sci.* – 1987. – V.118, No2. – P.590–597.
346. Kahlweit M. Über die Alterung von Niederschlägen durch Umlösung (Ostwald-Reifung) // *Z. Phys. Chem.* – 1963. – V.36, No5–6. – P.292–298.
347. Kabalnov A.S., Makarov K.N., Pertzov A.V., Shchukin E.D. Ostwald ripening in emulsions: 2. Ostwald ripening in hydrocarbon emulsions: Experimental verification of equation for absolute rates // *J. Colloid Interface Sci.* – 1990. – V.138, No1. – P.98–104.
348. Павлова-Веревкина О.Б., Апросин Ю.Д., Новопашина Л.В., Афонин Н.И. Исследование устойчивости высокодисперсных эмульсий перфторированных органических соединений, стабилизированных гидрофильным неионогенным ПАВ // *Коллоид. журн.* – 1987. – Т.49, №1. – С.178–182.
349. Brailsford A.D., Wynblatt P. The dependence of Ostwald ripening kinetics on particle volume fraction // *Acta Metall.* – 1979. – V.27, No3. – P.489–497.
350. Enomoto Y., Tokuyama M., Kawasaki K. Finite volume fraction effects on Ostwald ripening // *Acta Metall.* – 1986. – V.34, No11. – P. 2119–2128.

351. Weers J.G., Arlauskas R.A. Sedimentation Field-Flow Fractionation Studies of Ostwald Ripening in Fluorocarbon Emulsions Containing Two Disperse Phase Components // *Langmuir*. – 1995. – V.11, No2. – P.474–477.
352. Binks B.P., Cho W.-G., Fletcher P.D.I., Petsev D.N. Stability of Oil-in-Water Emulsions in a Low Interfacial Tension System // *Langmuir*. – 2000. – V.16, No3. – P.1025–1034.
353. Buscall R., Davis S.S., Potts D.S. The effect of long-chain alkanes on the stability of oil-in-water emulsions. The significance of Ostwald ripening // *Colloid Polym. Sci.* – 1979. – V.257, No6. – P.636–644.
354. Smith A., Davis S.S. Proceedings: The role of molecular diffusion in the bulk stability of o/w hydrocarbons emulsions // *J. Pharm. Pharmacology*. – 1973. – V.25, Suppl. – 117P.
355. Перцов А.В., Кабальнов А.С., Щукин Е.Д. Переконденсация частиц двухкомпонентной дисперсной фазы в случае большой разницы растворимостей компонентов в дисперсионной среде // *Коллоид. журн.* – 1984. – Т.46, №6. – С.1172–1176.
356. Кабальнов А.С., Перцов А.В., Апросин Ю.Д., Щукин Е.Д. Влияние природы и состава дисперсной фазы на устойчивость прямых эмульсий к переконденсации // *Коллоид. журн.* – 1985. – Т.47, №6. – С.1048–1053.
357. Kabalnov A.S., Pertzov A.V., Shchukin E.D. Ostwald ripening in two-component disperse phase systems: Application to emulsion stability // *Colloids Surf.* – 1987. – V.24, No1. – P.19–32.
358. Кабальнов А.С., Апросин Ю.Д., Павлова-Веревкина О.Б., Перцов А.В., Щукин Е.Д. Влияние природы и состава дисперсной фазы эмульсий перфторорганических соединений на кинетику понижения их дисперсности // *Коллоид. журн.* – 1986. – Т.48, №1. – С.27–32.
359. Sadtler V.M., Imbert P., Dellacherie E. Ostwald Ripening of Oil-in-Water Emulsions Stabilized by Phenoxy-Substituted Dextrans // *J. Colloid Interface Sci.* – 2002. – V.254, No2. – P.355–361.
360. Soma J., Papadopoulos K.P. Ostwald ripening in sodium dodecyl sulfate-stabilized decant-in-water emulsions // *J. Colloid Interface. Sci.* – 1996. – V.181, No1. – P.225–231.
361. Wooster T., Golding M., Sanguansri P. Impact of the oil type on nanoemulsion formulation // *Langmuir*. – 2008. – V.24, No22. – P.12758–12765.

362. Li J., Le Maux S., Xiao H., McClements D.J. Emulsion-Based Delivery Systems for Tributyrin, a Potential Colon Cancer Preventative Agent // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – V.57, No19. – P.9243–9349.
363. McClements D.J., Henson L., Popplewell L.M., Decker E.A., Choi S.J. Inhibition of Ostwald ripening in model beverage emulsions by addition of poorly water soluble triglyceride oils // *J. Food Sci.* – 2012. – V.71, No1. – P.33–38.
364. Güngör S., Özsoy A. Systemic delivery of antihypertensive drugs via skin // *Ther. Delivery.* – 2012. – V.3, No9. – P.1101–1116.
365. Willams A.C., Barry B.W. Penetration enhancers // *Adv. Drug Del. Rev.* – 2004. – V.56, No5. – P.603–618.
366. Ganem-Quintanar A., Quintanar-Guerrero D., Buri P. Monoolein: A Review of the Pharmaceutical Applications // *Drug Dev. Ind. Pharm.* – 2000. – V.26, No8. – P.809–820.
367. Tilcock C.P.S., Fisher D. Interactions of glycerolmonooleate and dimethylsulphoxide with phospholipids. A differential scanning calorimetry and NMR study // *Biophys. Acta.* – 1982. – V.685, No3. – P.340–346.
368. Flick E.W. *Emulsifying Agents: an Industrial Guide.* – New Jersey, USA: Noyes Publication, 1990. – 324p.
369. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6th edition. Eds. Rowe R.C., Sheskey P.J., Quinn M.E. – London, Chicago: Pharmaceutical Press, 2009. – 888 p.
370. Sakai T., Kamogawa K., Nishiyama K. Molecular Diffusion of Oil/Water Emulsions in Surfactant-Free Conditions // *Langmuir.* – 2002. – V.18, No6. – P.1985–1990.
371. *Handbook of Aqueous Solubility Data.* Eds. Samuel H., Yalkowsky Y.H. – London–New York–Washington: CRC Press, 2003. – 1512 p.
372. Задымова Н.М., Потешнова М.В. Акриловый полимер и гидроксипропилцеллюлоза – стабилизаторы множественных эмульсий гептан/вода/этилацетат // *Структура и динамика молекулярных систем: Сб. статей XIX Всеросс. конф.* – М., 2012. – Т.1. – С.178–180.
373. Capek I. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2004. – V.107, No2–3. – P.125–155.
374. Weiss J., Caneliere C., McClements D.J. Mass Transport Phenomena in Oil-in-Water Emulsions Containing Surfactant Micelles: Ostwald Ripening // *Langmuir.* – 2000. – V.16, No17. – P.6833–6838.

375. Kabalnov A.S. Can Micelles Mediate a Mass Transfer between Oil Droplets? // *Langmuir*. – 1994. – V.10, No3. – P.680–684.
376. Задымова Н.М., Аршакян Г.А., Иванова Н.И. Коллоидно–химические свойства глицерил моноолеата как липофильного ПАВ // Структура и динамика молекулярных систем: Сб. статей XIX Всеросс. конф. – М., 2012. – Т.1. – С.175–177.
377. Задымова Н.М., Аршакян Г.А. Ингибирование оствальдова созревания в миниэмульсиях гептан/вода // *Коллоидный журнал*. – 2014. – Т.76, №1. – С.28–41.
378. Zadymova N.M., Arshakyan G.A. Inhibition of Ostwald Ripening in Heptane/Water Miniemulsions // *Colloid Journal*. – 2014. – V.76, No1. – P.25–37.
379. Zadymova N.M., Arshakyan G.A. Inhibition of Ostwald ripening in heptane–in–water submicron emulsions by using stabilizers of various water solubilities // IV International Conference on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics, 30 June–05 July 2013, Moscow, Russia: book of abstr. – Moscow, 2013. – P. 398–399.
380. Тагер А.А. Физико-химия полимеров. – М.: Химия, 1968. – 536 с.
381. Краткий справочник физико-химических величин. Ред. Равдель А.А., Пономарева А.М. – Л.: Химия, 1983. –232 с.
382. Практикум и задачник по коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы. Ред. Назаров В.В., Гродский А.С. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2007. – 374 с.
383. Zadymova N.M., Poteshnova M.V., Kulitchikhin V.G. Rheology and colloid properties of O/W/O multiple emulsions containing acrylate polymer // 7-th Annual European Rheology Conference, May 10–14, 2011, Suzdal, Russia: Conference book. Book of abstracts. – Moscow, 2011. – P.134.
384. Задымова Н.М., Потешнова М.В. Акриловый полимер и гидроксипропилцеллюлоза – стабилизаторы множественных эмульсий гептан/вода/этилацетат // XIX Всероссийская конференция «Структура и динамика молекулярных систем. Яльчик–2012», 25–30 июня 2012, Йошкар-Ола – Уфа – Казань – Москва: сб. тез. докл. и сообщ. – Йошкар-Ола, 2012. – С.70.
385. Задымова Н.М., Аршакян Г.А., Потешнова М.В., Куличихин В.Г. Реологические свойства растворов полимеров и множественных эмульсий масло₁/вода/масло₂ на их основе // 26 симпозиум по реологии. 10–15 сентября 2012, Тверь: программа и тезисы. – Тверь, 2012. – С.68–69.

386. Zadymova N.M., Poteshnova M.V., Kulichikhin V.G. Properties of Oil₁/Water/Oil₂ Double Emulsions Containing Lipophilic Acrylic Polymer // *Colloid Journal*. – 2012. – V.74, No5. – P.541–552.
387. Преображенский Д.В., Сидоренко Б.А., Романова Н.Е., Шатунова И.М. Клиническая фармакология основных классов антигипертензивных препаратов // *Consilium Medicum*. – 2000. – No3 – С.99–127.
388. Sun Y., Fang L., Zhu M., Li W., Meng P., Li L., He Z. A drug-in-adhesive transdermal patch for S-amlodipine free base: in vitro and in vivo characterization // *Int. J. Pharm.* – 2009. – Dec. 1. V.382, No1–2. – P.165–171.
389. Задымова Н.М., Аршакян Г.А., Куличихин В.Г. Обратные и двойные эмульсии как основа микрогетерогенных матриц для трансдермальной доставки липофильных лекарств // *Известия Академии наук. Серия химическая*. – 2013. – Т.62, №3. – С.801–814.
390. Zadymova N.M. Invert and Double Emulsions as Base for Microheterogeneous Matrices for Transdermal Delivery of Lipophilic Drugs / N.M. Zadymova, G.A. Arshakyan, V.G. Kulichikhin // *Russian Chemical Bulletin. International Edition*. – 2013. – V.62, No3. – P.802–815.
391. Vandama Y., Sipai A.B.M., Mamatha Y., Prasanth V.V., Transdermal Drug Delivery: A Technical Writeup (Review Article) // *J. Pharm. Sci. Innovation*. – 2012. – V.1, No1. JUN-FEB. – P.5–12.
392. Wade A., Weller P.J. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. – Washington, DC: Amer. Pharm. Publishing Association, 1994. – 651 p.
393. Pilman E., Larsson K., Tornberg E. Inverse Micellar Phases in Ternary Systems of Polar Lipids/Fat/Water and Protein Emulsification of Such Phases to W/O/W-Microemulsions-Emulsions // *J. Dispersion Science and Technology*. – 1980. – V.1, No3. – P.267–281.
394. Yagmur A., de Campo L., Sagalowicz L., Leser M.E., Glatter O. Emulsified Microemulsions and Oil-Containing Liquid Crystalline Phases // *Langmuir*. – 2005. – V.21, No2. – P.569–577.
395. Jiao J., Rhodes D.G., Burgess D.J. Multiple emulsion stability: pressure balance and interfacial film strength // *J. Colloid Int. Sci.* – 2002. – V.250, No2. – P.444–450.
396. Garti N., Lutz R. Double Emulsions // *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*. Second edition, Ed. Somasundaran P. – New York, London: Taylor & Francis, 2006. V.3. – P.1816–1845.

397. Grossiord J.L., Seiller M. Rheology of W/O/W multiple emulsions: formulation, characterization and breakup mechanisms // Multiple Emulsions: Structure, Properties and Applications. Eds. Grossiord J.L., Seiller M. – Paris: Éditions de Santé, 1998. – P.169–192.
398. Pal R. Rheology of liquid membranes // Ind. Eng. Chem. Res. – 1998. – V.37, No5. – P.2052–2058.
399. Olivieri L., Seiller M., Bromberg E., Ron P., Grossiord J.L. Study of the Breakup Under Shear of a New Thermally Reversible Water-in-Oil-in-Water (W/O/W) Multiple Emulsion // Pharm. Res. – 2001. – V. 18, No5. – P.689–693.
400. Jiao J., Burgess D.J. Rheology and Stability water-in-oil-in-water multiple emulsions containing Span 83 and Tween 80 // AAPS Pharm. Sci. – 2003. – V.5, No1. – Article No7.
401. Pal R. Rheology of simple and multiple emulsions // Current Opinion in Colloid Interface Sci. – 2011. – V.16, No1. – P.41–60.
402. Королева М.Ю., Токарев А.М., Юртов Е.В. Моделирование флокуляции в обратных эмульсиях методом динамики Ланжевена // Коллоидный. журн. – 2013. – Т.75, №6. – С.723–730.
403. Cho Y.-H., Park J. Evaluation of Process Parameters in the O/W/O Multiple Emulsion Method for Flavor Encapsulation // J. of Food Science. – 2003. – V.68, No2. – P.534–538.
404. Oh C., Park J.H., Shin S., Oh S.G. O/W/O multiple emulsions via one-step emulsification process // J. of Dispersion Science and Technology. – 2004. – V.25, No1. – P.53–62.
405. Справочник химика, 2-ое изд. Ред. Никольский Б.П.. – Л. – М.: ГНТИ Химической литературы, 1962. – Т.1. – 1071 с.
406. Задымова Н.М., Ямпольская Г.П., Потешнова М.В., Куличихин В.Г. Эмульсионный подход к получению полимерных пленок – носителей лизоцима // Коллоид. журн. – 2011. – Т.73, №5. – С.629–640.
407. Pal R. Multiple O/W/O Emulsion Rheology // Langmuir. – 1996. – V.12, No9. – P.2220–2225.
408. Pal R. Rheology of double emulsions // J. Colloid and Int. Sci. – 2007. – V.307, No2. – P.509–515.
409. Cleland J.L., Daugherty A., Marshy R. Emerging protein delivery methods // Curr. Opin. Biotech. – 2001. – V.12, No2. – P.212–219.

410. Chong S, Fung H.L. Transdermal drug delivery systems: Pharmacokinetics, clinical efficacy, and tolerance development // *Transdermal Drug Delivery: Developmental Issues and Research Initiatives*. Eds. Hadgraft J., Guy R.H. – New York: Marcel Dekker, 1989. – P.135–154.
411. Schmitt V., Arditty S., Leal-Calderon F. Stability of concentrated emulsions // *Emulsions: Structure Stability and Interactions*. Ed. Petsev D.N. – Amsterdam: Elsevier, 2004. – P.607–640.
412. Matsumoto S., Kita Y., Yonezawa D. An attempt at preparing water-in-oil-in-water multiple-phase emulsions // *J. Colloid and Interface Sci.* – 1976. – V.57, No2. – P.353–361.
413. Imoto T., Johnson L.N., North A.C. 21 Vertebrate Lysozymes // *The Enzymes*. – 1972. – V.7. – P.665–868.
414. Mason T.G. New fundamental concepts in emulsion rheology // *Current Opinion in Colloid & Interface Sci.* – 1999. – V.4, No3. – P.231–238.
415. Ребиндер П.А. Избранные труды. Поверхностные явления в дисперсных системах. Коллоидная химия. – М.: Наука, 1978. – 368 с.
416. Barnes H.A. Rheology of emulsions // *Emulsions: Structure Stability and Interactions*. Ed. Petsev D.N. – Amsterdam: Elsevier, 2004. – P.721–760.
417. Tadros T.F. Emulsion Formation, Stability, and Rheology // *Emulsion Formation and Stability*. Ed. Tadros T.F. – Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013. – P.1–75.
418. Derkach S. R. Rheology of Emulsions // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2009. – V.151, No1–2. – P.1–23.
419. Деркач С.Р. Реология эмульсий (очерки по коллоидной химии). – СПб.: Наука, 2012. – 212 с.
420. Derkach S. R. Rheology on the Way from Dilute to Concentrated Emulsions // *Int. Review of Chemical Engineering (I.RE.CH.E.)*. – 2010. – V.2, No3. – P.465–472.
421. Taylor G.I. The viscosity of a fluid containing small drops of another liquid // *Proc. Roy. Soc.* – 1932. – V.A138, No834. – P.41–48.
422. Oldroyd J.G. The effect of interfacial stabilizing films on the elastic and viscous properties of emulsions // *Proc. Roy. Soc.* – 1955. – V.A232, No1191. – P.567–577.
423. Pal R. Shear viscosity behavior of emulsions of two immiscible liquids // *J. Colloid Interface Sci.* – 2000. – V.225, No2. – P.359–366.

424. Teipel U., Aksel N. Rheologically Identical Behavior of Emulsions and Suspensions in Steady Shear Flow: Dimensional Analysis and Experimental Evidence // *Chem. Eng. Technol.* – 2003. – V.26, No9. – P.947–951.
425. Nikovska K. Oxidative Stability and Rheological Properties of Oil-in-Water Emulsions with Walnut Oil // *Advance Journal of Food Science and Technology.* – 2010. – V.2, No3. – P.172–177.
426. Pal R. Rheology of Highly Flocculated Oil in Water Emulsions // *Chem. Eng. Comm.* – 1990. – V.98, No1. – P.211–222.
427. Измайлова В.Н., Деркач С.Р., Левачев С.М. и др. Устойчивость прямых эмульсий (масло/вода), стабилизированных желатиной // *Журн. научной и прикладной фотографии.* – 2002. – Т.47, №6. – С.38–73.
428. Smith-Palmer T., Pelton R. Flocculation of Particles // *Encyclopedia of Surface and Colloid Science.* Eds. Somasundaran P., Hubbard A.T. – New York, London: Taylor&Francis Group, 2006. – V.4. – P.2584–2599.
429. Handbook of Food Preservation, 2-nd edition. Ed. Rahman M.S. – Boca Raton, FL: CRC Press, 2007 – 1088 p.
430. Evrenenko G., Yu C.-J., Kewalramani S., Dutta P. Structural reorganization in films of cellulose derivatives in the presence of colloidal particles // *Polymer.* – 2004. – V.45, No18. – P.6269–6273.
431. Sperry P.R., Hopfenberg H.B., Thomas N.C. Flocculation of latex by water soluble polymers: Experimental confirmation of a nonbridging, nonadsorptive, volume-restriction mechanism // *J. Colloid Int. Sci.* – 1981. – V.82, No1. – P.62–76.
432. Неппер Д. Стабилизация коллоидных дисперсий полимерами. Пер. с англ. – М.: Мир, 1986. – 488 с.
433. Kitahara A., Hasumuma M. Flocculation-deflocculation effect of polymer additive in nonaqueous dispersions // *J. Colloid Int. Sci.* – 1972. – V.41, No2. – P.383–384.
434. Evans R., Napper D.H. Flocculation of Latexes by low molecular weight polymers // *Nature.* – 1973. – V.246, No5427. – P.34–35.
435. Sato T., Ruch R. Stabilization of Colloid Dispersions by Polymer Adsorption. – New York: Marcel Dekker Inc., 1980. – 155 p.
436. Poteshnova M.V., Zadymova N.M. Colloid Properties of Binary Aqueous Solutions of Hydroxypropyl Cellulose and Nonionic Surfactant Tween 80 // *Book of Abstracts IV Int. Conf. on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics.* Moscow, MSU, 2013. – P.389–390.

437. Freer E.M., Yim K.B., Fuller G.G., Radke C.J. Interfacial Rheology of Globular and Flexible Proteins at the Hexadecane/ Water Interface: Comparison of Shear and Dilatation Deformation // *J. Phys. Chem. B.* – 2004. – V.108, No12. – P.3835–3844.
438. Svitova T.F., Lin M.C. Tear Lipids Interfacial Rheology: Effect of Lysozyme and Lens Care Solutions // *Optometry and Vision Science.* – 2010. – V.87, No1. – P.10–20.
439. Alahverdijeva V.S., Grigoriev D.O., Fainerman V.B., Aksenenko E.V., Miller R., Möhwald H. Competitive Adsorption from Mixed Hen Egg-White Lysozyme/Surfactant Solutions at the Air-Water Interface Studied by Tensiometry, Ellipsometry, and Surface Dilational Rheology // *J. Phys. Chem. B.* – 2008. – V.112, No7. – P.2136–2143.
440. Soboleva O.A., Ivanov R.A. Surface Tension of Lysozyme Mixtures with Dodecyltrimethylammonium Bromide and Sodium Dodecylsulfate at Water/Air and Water/Octane Interfaces // *Moscow University Chemistry Bulletin.* – 2011. – V.65, No5. – P.322–325.
441. Yampolskaya G.P., Zadymova N.M., Belovodova E.N., Tulovskaya Z.D. Surface tension isotherms of globular protein solutions // *Book of abstracts XVI European Chemistry at Interfaces Conference, Vladimir, Russia, May 14–18, 2003.* – P.49.
442. McGuire J., Joishi O. Adsorption of Protein with Synthetic Materials // *Downstream Industrial Biotechnology: Recovery and Purification.* Ed. Flickinger M.C. – London: John Wiley & Sons, 2013. – P.177–190.
443. Yokoyama Y, Ishiguro R, Maeda H, Mukaiyama M, Kameyama K, Hiramatsu K. Quantitative analysis of protein adsorption on a planar surface by Fourier transform infrared spectroscopy: lysozyme adsorbed on hydrophobic silicon-containing polymer // *J Colloid Interface Sci.* – 2003. – V.268, No1. – P.23–32.
444. Ямпольская Г.П., Еленский А.А., Панькина Н.В., Тарасевич Б.Н., Куличихин В.Г. Свойства гелей каррагенана с иммобилизованным лизоцимом // *Коллоид. журн.* – 2009. – Т.71, No2. – С.275–284.
445. Zadymova N.M., Yampolskaya G.P., Poteshnova M.V., Kulichikhin V.G. Emulsion Approach to Production of Polymer Films used as Carriers of Lysozyme // *Colloid Journal.* – 2011. – V.73, No5. – P.635–645.
446. Задымова Н.М., Ямпольская Г.П., Потешнова М.В., Куличихин В.Г. Структурно-реологические свойства прямых ультрадисперсных эмульсий на

основе гидрофильных и гидрофобных полимеров и неионогенных ПАВ // Материалы 23 симпозиума по реологии. Валдай, 19–24 июня, 2006. – С.53.

447. Zadymova N.M., Yampolskaya G.P., Elenskiy A.A., Kulichikhin V.G. Colloid structures for transdermal delivery of biology active species // III International Conference on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics, 24–28 June, 2008, Moscow: Program and Summaries. – Moscow, 2008. – P.50.
448. Zadymova N.M. Templates for 2D protein crystallization developed on knowledge of rheological properties of polymer dispersions / N.M. Zadymova, G.P. Yampolskaya // 7th Annual European Rheology Conference, May 10–14, 2011, Suzdal, Russia: Conference book. Book of abstracts. – Moscow, 2011. – P.43.
449. Mezdour S., Lepine A., Erazo-Majewicz P., Ducept F., Michon C. Oil/water surface rheological properties of hydroxypropyl cellulose (HPC) alone and mixed with lecithin: Contribution to emulsion stability // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2008. – V.331, No1–2. – P.76–83.