

УДК 621.926.47

## Механохимическая модификация свойств антигельминтных препаратов

С. С. ХАЛИКОВ<sup>1</sup>, М. С. ХАЛИКОВ<sup>1</sup>, Е. С. МЕТЕЛЕВА<sup>2</sup>, С. А. ГУСЬКОВ<sup>2</sup>, В. И. ЕВСЕЕНКО<sup>2</sup>, А. В. ДУШКИН<sup>2</sup>, В. С. БУРАНБАЕВ<sup>3</sup>, Р. Г. ФАЗЛАЕВ<sup>4</sup>, В. З. ГАЛИМОВА<sup>4</sup>, А. М. ГАЛИУЛЛИНА<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста растений с опытным производством Академии наук Республики Башкортостан, ул. Ульяновых, 65, Уфа 450029 (Россия)

E-mail: salavatkhalikov@mail.ru

<sup>2</sup>Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения РАН, ул. Кутателадзе, 18, Новосибирск 630128 (Россия)

<sup>3</sup>Управление ветеринарии Республики Башкортостан, ул. Пушкина, 106, Уфа 450001 (Россия)

<sup>4</sup>Башкирский государственный аграрный университет, ул. 50 лет Октября, 34, Уфа 450001 (Россия)

### Аннотация

Изучены процессы совместной механической активации некоторых бензимидазольных антигельминтных препаратов с водорастворимыми полимерами в мельницах ударно-стирающего типа. Обсуждены условия синтеза супрамолекулярных комплексов при различных соотношениях компонентов и энергонапряженности измельчителей-активаторов. Продукты механохимического синтеза охарактеризованы по показателям водорастворимости и дисперсности. Полученные продукты обладают высокой по сравнению с исходными бензимидазолами водорастворимостью и дисперсностью, представляют интерес в качестве потенциальных антигельминтных препаратов повышенной эффективности.

**Ключевые слова:** антигельминтики, карбендацим, альбендазол, полимеры, полисахариды, измельчение, механическая активация, супрамолекулярные комплексы, водорастворимость, дисперсность, нанотехнология, механохимический синтез, эхинококкоз

### ВВЕДЕНИЕ

Как известно, процессы измельчения являются одними из важнейших технологических процессов в фармацевтической промышленности, так как позволяют получать порошки с регулируемой дисперсностью [1]. В обзоре [2] на многочисленных примерах показаны положительные и отрицательные последствия применения процессов измельчения субстанций лекарственных веществ. Наиболее существенные изменения свойств лекарственных субстанций наблюдались при совместной механической обработке их субстанций с полимерами. Эти исследования проводились с 70-х годов прошлого века двумя группами японских ученых [3, 4]. Исследования различ-

ных школ российских ученых в области механохимии органических веществ приведены в обзоре [5]. В настоящее время процессы получения тонкодиспергированных порошков относятся к области нанотехнологии, которая внедряется в различные отрасли науки и техники. В этом плане получение наноразмерных супрамолекулярных систем биологически активных веществ с использованием механохимических методов позволяет решать вопросы как научного, так и технологического аспектов. Так, путем механохимической модификации свойств известных субстанций лекарственных веществ получены супрамолекулярные комплексы, позволяющие достичь необходимого фармакологического эффекта при многократно сниженных относительно офи-

циально рекомендованных дозах, а следовательно, позволяет уменьшить токсическое воздействие препаратов на живой организм [6–8].

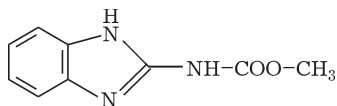
Ранее с использованием методов механохимической модификации из субстанции антигельминтика медамина нами были получены комплексы. Их образование подтверждено данными ИК-спектроскопии, ДТА и рентгенофазовых исследований [9]; изучены их растворимость и процессы диализа. При этом удалось не только повысить эффективность препарата против круглых и ленточных гельминтов, но и значительно расширить спектр их действия (в том числе, против лаврально-эхинококкоза).

Настоящая работа посвящена исследованию антигельминтных препаратов в ряду бензимидазолов (карбендацим, альбендазол), и в частности, механохимическому получению супрамолекулярных комплексов антигельминтных препаратов с водорастворимыми полисахаридами и  $\beta$ -циклодекстрином. Указанные препараты плохо всасываются в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) и обладают низкой биодоступностью, вероятно, вследствие низкой растворимости в водных растворах. Мы предполагали, что их биологически активные молекулы в составе комплексов будут оказывать более высокий фармакологический эффект благодаря повышенной способности достигать биологически активные центры эндопаразитов и воздействовать на них.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

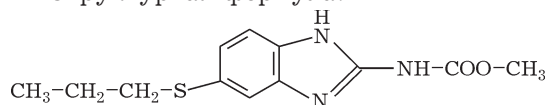
Для работы выбраны следующие исходные реагенты и полимеры:

1) Карбендацим – метил(1*H*-бензимидазол-2-ил)карбамат, субстанция антигельминтика медамина, фармакопейной чистоты. Брутто-формула  $C_9H_9N_3O_2$ . Структурная формула:



2) Альбендазол – метил[6-(пропилтио)-1*H*-бензимидазол-2-ил]карбамат, субстанция антигельминтика альбендазола, фармакопейной чистоты. Брутто-формула  $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ .

Структурная формула:



3) Арабиногалактан (Фибролар С) – аморфный порошок светло-кремового цвета, производство ООО “Химия древесины” (Иркутск), ГУ-9363-021-39094141-08; серия 19092010.

4) Гидроксиэтилкрахмал (ГЭК 200/0.5) и  $\beta$ -циклодекстрин фармакопейной чистоты.

Для проведения механохимического синтеза использована валковая шаровая мельница ВМ-1, преимущества которой при механохимическом получении водорастворимых композиций показаны нами ранее в работе [8].

## Активация в валковой шаровой мельнице ВМ-1

В стальной барабан вместимостью 300 мл загружают 2.1 г субстанции лекарственного вещества, 21.0 г комплексообразователя (арабиногалактан, ГЭК или  $\beta$ -циклодекстрин) и 675 г металлических шаров (диаметр шаров 15 мм). Барабан устанавливают на валках и проводят активацию смеси при вращении барабана с частотой 90 мин<sup>-1</sup> в течение 1–6 ч. Получают композиции состава лекарственного вещества – комплексообразователя (соотношение 1 : 10 по массе) в виде сыпучего порошка белого цвета. По совокупным данным по растворимости полученных композиций установлено оптимальное время механической обработки, которое составило 2 ч.

## Определение растворимости антигельминтиков

Для определения растворимости антигельминтиков 0.44 г механически обработанной смеси полимер/антигельминтик (10 : 1), а также навески индивидуальных веществ, эквивалентные их содержанию в указанных смесях, растворяли в 5 мл дистиллированной воды при перемешивании на магнитной мешалке (600 мин<sup>-1</sup>) в течение 6 и 24 ч при температуре 25 °С. Концентрация антигельминтика в отобранных пробах анализировалась с помощью ВЭЖХ. Постоянные концентрации в растворах достигались за время растворения существенно менее 6 ч. Во всех случаях антигельминтик в растворе находился в рав-

новесии с осадком нерастворившейся субстанции. При этом полимеры/комплексообразователи полностью переходили в раствор. Анализ ВЭЖХ проводился с использованием хроматографа Agilent 1200 с колонкой Zorbax Eclipse XDB-C18, 4.6 × 50 мм. Температура колонки составляла 30 °С; диодно-матричный УФ-детектор. Метод ВЭЖХ использовался для определения концентрации/растворимости антигельминтиков в воде из композиций полимер/антигельминтик. В качестве элюента использовалась система ацетонитрил – вода (соотношение 25 : 75), детектирование проводилось в диапазоне длин волн 230–280 нм. Концентрации исследуемых антигельминтиков определялись относительно их специально приготовленных спиртовых растворов.

#### Определение гранулометрического/дисперсного состава частиц суспензий

Гранулометрический/дисперсный состав частиц суспензий исходных субстанций антигельминтиков и их комплексов определяли с помощью лазерного анализатора размеров частиц Microsizer-201a (“ВА Инсталт”, Россия). В модуль пробоподготовки (объем жидкости 150 см<sup>3</sup>) засыпали 1–5 г исследуемого порошка в количестве, достаточном для достиже-

ния 70–75 % светопропускания через кювету. Измерения проводились после перемешивания в течение 1–2 мин при одновременной ультразвуковой обработке суспензии для разрушения агломератов. Обработка данных проводилась по встроенной в анализатор программе расчета. Результаты представлялись в виде гистограмм массового распределения по размерам частиц.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При пероральном введении полученных композиций в жидкой фазе ЖКТ животного лекарственное вещество будет присутствовать как в растворенном виде, так и в виде нерастворившихся мелкодисперсных частиц. Можно предположить, что увеличение водорастворимости будет способствовать повышению биодоступности исследуемых препаратов [6, 8]. С другой стороны, дисперсный состав суспензий влияет на эффективность “контактного” действия частиц препарата на биологически чувствительные центры гельминтов [11, 12], находящиеся в ЖКТ. В этой связи особое внимание уделено исследованию водорастворимости и дисперсного состава суспензий.

ТАБЛИЦА 1

Увеличение растворимости антигельминтиков в воде из композиций с различными комплексообразователями (продолжительность механической обработки в мельнице ВМ 2 ч)

| Состав образцов<br>(массовое соотношение) | Способ получения<br>С <sub>ЛВ</sub> , г/л | Растворимость | Увеличение<br>растворимости, X |
|---|---|---------------|--------------------------------|
| Карбендацим                               | Исходная субстанция                       | 0.009         | –                              |
| Карбендацим – ЦД (1 : 6)                  | Без механообработки*                      | 0.013         | 1.4                            |
|   | Механообработка                           | 0.013         | 1.4                            |
| Карбендацим – ГЭК (1 : 10)                | Без механообработки                       | 0.010         | 1.1                            |
|   | Механообработка                           | 0.020         | 2.1                            |
| Карбендацим – АГ (1 : 10)                 | Без механообработки                       | 0.073         | 8.1                            |
|   | Механообработка                           | 0.146         | 16.2                           |
| Альбендазол                               | Исходная субстанция                       | 0.003         | –                              |
| Альбендазол – ЦД (1 : 6)                  | Механообработка                           | 0.009         | 3.0                            |
| Альбендазол – ГЭК (1 : 10)                | »   | 0.094         | 31.3                           |
| Альбендазол – АГ (1 : 10)                 | »   | 0.174         | 58.0                           |

Примечание. Здесь и в табл. 2: ЦД – β-циклодекстрин, ГЭК – гидроксиэтилкрахмал, АГ – арабиногалактан.

\* Смеси порошков исходных веществ, не подвергнутых механической обработке.

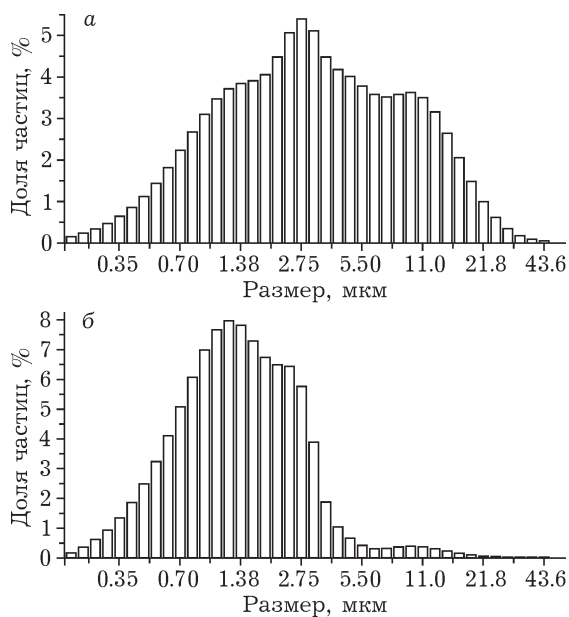


Рис. 1. Гистограммы массового распределения частиц в суспензиях субстанции альбендазола (а) и механически полученной композиции состава альбендазол/арабиногалактан (1 : 10) (б).

Полученные данные по измерениям водорастворимости исходных субстанций препаратов, а также их композиций с комплексообразователями приведены в табл. 1. Наиболее существенно водорастворимость возрастает для арабиногалактана (АГ) по сравнению с ее увеличением для гидроксиэтилкрахмала (ГЭК),  $\beta$ -циклодекстрина (ЦД) и композиций, полученных механическим путем.

Ранее было показано [6–8], что увеличение водорастворимости малорастворимых низ-

комолекулярных органических субстанций происходит за счет образования водорастворимых супрамолекулярных комплексов по типу “гость – хозяин”, где в качестве “хозяина” выступают водорастворимые олиго- и полимеры (арабиногалактан, гидроксиэтилкрахмал и  $\beta$ -циклодекстрин). Установлено, что водорастворимость зависит от прочности (стабильности) комплексов. Из полученных результатов следует, что арабиногалактан – наиболее эффективный комплексообразователь, а это согласуется с полученными ранее данными для других малорастворимых субстанций [8].

На рис. 1 приведены результаты анализа гранулометрического состава водных суспензий полученных порошкообразных продуктов на примере альбендазола. Кумулятивные данные гранулометрических измерений приведены в табл. 2. Необходимо отметить, что во всех случаях измерению подвергаются только нерастворившиеся частицы лекарственных субстанций, при этом вещество комплексообразователя полностью растворяется.

Из данных табл. 2 видно, что совместное измельчение субстанций карбендацима и альбендазола с полисахаридами приводит к значительному уменьшению размера нерастворившихся частиц. Эти данные подтверждают наше предположение о том, что механическая обработка их смесей с полимерами позволяет получать микро- и, возможно, наноразмерные частицы лекарственных средств [10]. Наибольший эффект достигается при суспен-

ТАБЛИЦА 2

Данные гранулометрического состава (массовое распределение по размерам частиц) водных суспензий композиций антигельминтных препаратов, полученных при механической обработке в мельнице ВМ в течение 2 ч

| Состав образцов<br>(массовое соотношение) | Максимальный размер частиц в выделенных фракциях, мкм |      |      |       |
|---|---|------|------|-------|
|   | Доля от общей массы образцов, %                       |      |      |       |
|   | 30  | 50   | 70   | 90    |
| Альбендазол – АГ (1 : 10)                 | 1.00  | 1.41 | 2.06 | 3.22  |
| Карбендацим – АГ (1 : 10)                 | 0.86  | 1.19 | 1.66 | 2.74  |
| Альбендазол – ГЭК (1 : 10)                | 1.86  | 3.13 | 5.31 | 10.40 |
| Карбендацим – ГЭК (1 : 10)                | 1.17  | 1.74 | 2.63 | 4.76  |
| Альбендазол – ЦД (1 : 6)                  | 1.73  | 2.85 | 4.46 | 8.25  |
| Карбендацим – ЦД (1 : 6)                  | 1.13  | 1.65 | 2.47 | 4.24  |
| Альбендазол – исходная субстанция         | 1.82  | 3.24 | 6.17 | 13.46 |
| Карбендацим – исходная субстанция         | 2.31  | 3.78 | 6.43 | 13.44 |

Примечание. Обозн. см. табл. 1.

дировании композиций, включающих арабиногалактан. Одновременно эти же образцы демонстрируют максимальное увеличение растворимости лекарственных веществ (см. табл. 1). По-видимому, полученные механохимическим путем композиции использованных антигельминтиков и арабиногалактана наиболее перспективны для дальнейших фармакологических исследований.

Таким образом, нами получены композиции антигельминтных препаратов (карбендацима и альбендазола), обладающие значительно повышенной водорастворимостью и мелкодисперсностью, а следовательно, и повышенной антигельминтной активностью.

Результаты предварительных исследований *in vivo*, проведенных в лабораторных условиях с инвазионным началом нематод (яйца, личинки), указывают на ингибирующее действие синтезированных комплексов. Это позволило начать производственные испытания данных препаратов в животноводческих хозяйствах Баймакского района Республики Башкортостан.

Полученные к настоящему времени результаты испытаний подтверждают перспективность применения предлагаемых нами препаратов для дегельментизации сельскохозяйственных животных.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методами механохимической модификации антигельминтных препаратов (карбендацим,

альбендазол) путем их совместной механической активации с полисахаридами и циклодекстрином показана возможность повышения их водорастворимости и дисперсности водных суспензий. Получены результаты по повышению их антигельминтной активности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Езерский М. Л., Перькова М. Н. // Хим-фарм. журн. 1979. № 11. С. 87–91.
- 2 Дубинская А. М. // Хим-фарм. журн. 1989. № 6. С. 755–764.
- 3 Kaneniwa N., Ikekawa A. // Chem. Pharm. Bull. 1975. Vol. 23, No. 11. P. 2973–2986.
- 4 Nakai Y., Fukuoka E., Nakajima S., Yamamoto K. // Chem. Pharm. Bull. 1977. Vol. 25, No. 12. P. 3340–3346.
- 5 Дубинская А. М. // Успехи химии. 1999. Т. 48, № 8. С. 708–724.
- 6 Душкин А. В., Метелева Е. С., Толстикова Т. Г., Толстикова Г. А., Поляков Н. Э., Медведева Е. Н., Неверова Н. А., Бабкин В. А. // Изв. РАН. Сер. хим. 2008. № 6. С. 1274–1282.
- 7 Dushkin A. V. Mechanochemical Synthesis of Organic Compounds and Rapidly Soluble Materials. // High-Energy Ball Milling. Mechanochemical Processing of Nanopowders. Oxford: Woodhead Publ. Ltd, 2010. P. 249–273.
- 8 Душкин А. В., Метелева Е. С., Толстикова Т. Г., Хвостов М. В., Толстиков Г. А. // Химия уст. разв. 2010. Т. 18. № 6. С. 719–728.
- 9 Халиков С. С., Кутлымуратов А. П., Садилов Т., Арипов Х. Н. // Химия природ. соед. 1997. Спецвып. С. 91–94.
- 10 Халиков С. С. Аспекты механохимической технологии модификации биологически активных веществ // Тез. докл. VIII Всерос. конф. с междунар. участием “Химия и медицина”. Уфа, 2010. С. 78.
- 11 Yakou S., Umehara K., Sonobe T., Nagai T., Sugihara M., Fukuyama Y. // Chem. Pharm. Bull. 1984. Vol. 32, No. 10. P. 4130–4136.
- 12 Деримедведь Л. В., Перцев И. М., Мусиенко Р. С. // Провизор. 2003. № 9. С. 20–27.