МЕХАНОХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ТРИКЛАБЕНДАЗОЛА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВ ФАСЦИОЛЕЗА

Халиков М. С.¹,

научный сотрудник,

Научно-исследовательский отдел ООО «НВЦ Агроветзащита»,

mhalikov@vetmag.ru

Мусаев М. Б.²,

доктор ветеринарных наук,

главный научный сотрудник лаб. экспериментальной терапии

Аннотация

Для изучения возможности увеличения растворимости субстанции триклабендазола (ТКБ) использована технология механохимической модификации ТКБ с помощью водорастворимых полимеров, в частности, поливинилпирролидона (ПВП) и арабиногалактана (АГ) из лиственницы сибирской *Larix sibirica*. После совместной механообработки ТКБ с полимерами (ПВП, АГ) в шаровой мельнице LE-101 (производство Венгрии) получены легкосыпучие порошкообразные дисперсии, обладающие повышенной растворимостью (более чем в 50 раз по сравнению с исходной субстанцией ТКБ). Такой результат объяснили образованием межмолекулярных комплексов по типу водородной связи между характеристичными группами ТКБ и полимеров, что было подтверждено данными ИК-спектральных исследований. Испытания на спонтанно инвазированных фасциолами овцах межмолекулярных комплексов показали высокую эффективность. В результате проведенных исследований было установлено, что комплекс состава ТКБ:АГ (1:9), названный нами «триклафасцид», обладает рядом положительных признаков по сравнению с субстанцией триклабендазола и обеспечивает высокую фасциолоцидную и экономическую эффективность, безопасность применения за счёт снижения терапевтической дозы. Включение же в состав препарата

¹ Общество с ограниченной ответственностью «НВЦ Агроветзащита» (129329 Россия, г. Москва, Игарский проезд, д. 4, стр. 2), mhalikov@vetmag.ru

² Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (117218 г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28)

арабиногалактана, обладающего гепатопротекторной, антимутагенной, митогенной, гастропротекторной свойствами позволило снизить токсичность предлагаемого для практики препарата. Показано, что остаточные количества триклабендазола и его метаболитов не определялись в тканях и органах на 14 сутки эксперимента с триклафасцидом, что указывает на возможность производить убой животного и использовать мясо через 14 дней после применения препарата. Препарат обладает хорошей растворимостью, биологической доступностью к гельминтам, не токсичен, повышает антигельминтную и экономическую эффективность. Полученные результаты подтвердили ранее полученные данные о перспективности инновационного подхода для улучшения показателей качества антигельминтных препаратов и получения эффективных препаратов для ветеринарии.

Ключевые слова: фасциолез, триклабендазол, механохимическая технология, растворимость.

MECHANOCHEMICAL MODIFICATION OF TRIKLABENDAZOL TO OBTAIN AN EFFECTIVE DRUG AGAINST FACTIOLEIS

Khalikov M. S.¹,

Researcher, Department of LLC SIC Agrovetzashchita,
mhalikov@vetmag.ru

Musaev M. B.²,

Doctor of Veterinary Science,
Chief Researcher of the Laboratory of Experimental Therapy

Abstract

To study the possibility of increasing the solubility of the substance triclabendazole (TCB), we used the technology of mechanochemical modification of TCB using water-soluble polymers, polyvinylpyrrolidone (PVP) and arabinogalactan (AG) from Siberian larch *Larix sibirica* in particular. After joint machining of TCB with polymers (PVP, AG) in a LE-101 ball mill (made in Hungary), free flowing powder dispersions with an increased solubility (more than 50 times as compared to the

¹ Limited Liability Company SIC Agrovetzashchita (129329 Russia, Moscow, Igarsky Proezd, 4/2), mhalikov@vetmag.ru

² All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – a Branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Center – All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences” (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia)

original substance TCB) were obtained. This result was explained by the formation of intermolecular complexes of the type of hydrogen bond between the characteristic groups of TCB and polymers, which was confirmed by the data of IR-spectral studies. Tests of intermolecular complexes on spontaneously fasciola-infected sheep have shown high efficiency. As a result of the research, it was found that the complex of TCB: AG composition (1:9), which we named “triclafascid”, possesses a number of positive attributes in comparison with the substance of TCB and provides high fasciolocid and economic efficacy, and safety of use by reducing the therapeutic dose. Inclusion of arabinogalactan, which has hepatoprotective, antimutagenic, mitogenic, gastroprotective properties, in the preparation, made it possible to reduce the toxicity of the preparation proposed for practice. It was shown that residual amounts of TCB and its metabolites were not detected in tissues and organs on the 14th day of the experiment with triclafascid, which indicates the possibility of slaughtering an animal and using meat 14 days after using the drug. The drug has good solubility, bioavailability to helminthes, is non-toxic, and increases antihelminthic and economic efficiency. The obtained results confirmed the previously obtained data on the prospects of an innovative approach to improve the quality indicators of anthelmintic drugs and to obtain effective drugs for veterinary medicine.

Keywords: fasciolosis, triclabendazole, mechanochemical technology, solubility.

Введение. Одним из опасных паразитарных заболеваний жвачных животных является фасциоз, который приводит к тяжелым патологическим изменениям, вплоть до падежа молодняка. Ранее [1] нами был предложен препарат триклафасцид для дегельминтизации животных при фасциозе. Препарат был получен при совместной механохимической обработке ТКБ и АГ в измельчителе-активаторе LE-101 /производство Венгрии (бывш.ВНР)/ с регулируемой энергонапряженностью [2].

Целью настоящей работы было изучить влияние природы полимера (для сравнения были выбраны ПВП и АГ) на изменение растворимости ТКБ и процесс комплексообразования с привлечением ИК-спектральных данных.

Материалы и методы. В работе использованы:

- субстанция триклабендазола -5-хлор-6-(2,3-дихлорфенокси)-2-(метилтио)-1Н-бензимидазол- серии SZBCZZZXW от Sigma Aldrich (сод. 99%). Брутто формула C₁₄H₉ Cl₃N₂OS.

Структурная формула:

- арабиногалактан (АГ) из лиственницы сибирской *Larix sibirica* / ТУ 9363-021-39094141-08, серия 02042013/;
- поливинилпирролидон (ПВП) (ФСП 42-0345-4368-03) с молекулярной массой $M_w \sim 12$ кДа.

Процесс механохимической обработки проводили в капролоновом барабане (объем 300 мл) при совместной (весовое соотношение ТКБ:полимер=1:9) в условиях описанных ранее [2]. Полученные при различном времени активации (от 1 до 24 час) образцы были исследованы, в первую очередь, на растворимость в воде, чтобы определить насколько изменился этот параметр, который нами рассматривается как основной для подтверждения образования межмолекулярных комплексов [3]. По этой схеме были получены комплексы состава ТКБ:ПВП (1:9) и ТКБ:АГ (1:9). Для определения растворимости этих комплексов в воде нами была использована методика, описанная в работе [3]. ИК-спектры комплексов измеряли методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) на инфракрасном фурье-спектрометре VERTEX 70v фирмы BRUKER (ФРГ) с использованием приставки НПВО GladyATR 50 фирмы PIKE (США) с алмазным рабочим элементом в области $4000-400\text{ см}^{-1}$ со спектральным разрешением 4 см^{-1} [4].

Результаты исследований. В ходе исследования наблюдалось существенное увеличение растворимости ТКБ, а именно, растворимость для комплекса ТКБ:АГ (1:9), полученного после 16 часовой механообработки, была в 55 раз выше, чем растворимость исходного ТКБ и более чем в 8 раз, чем физическая смесь такого же состава, полученная в ступке (табл. 1).

Таблица 1

Изменение растворимости в образцах, полученных совместной механообработкой ТКБ и АГ

№ п/п	Название образца	Растворимость	
		абсолютная, мг/л	увеличение
1	ТКБ – исх.субстанция	2,0	-
2	Физическая смесь ТКБ:АГ(1:9)	18,4	9,2
3	Продукт механообработки (2 час)	31,4	15,7
4	Продукт механообработки (4 час)	49,1	24,6
5	Продукт механообработки (10 час)	85,2	42,6
6	Продукт механообработки (16 час)	111,5	55,8

Такое резкое увеличение растворимости у образца после 16 часов механообработки мы объясняем образованием межмолекулярного комплекса путем формирования водородной связи типа (ТКБ) $>NH...OH$ (АГ) и (ТКБ) $>NH...O=C<$ (АГ). Такой вывод следует на основании анализа ИК-спектров исходных ТКБ, АГ и продуктов механообработки, а именно, произошло смещение полосы при 2926 см^{-1} (колебания $=CH-$, $-CH-$ и $C-Cl$ связей ароматических колец ТКБ), наблюдается исчезновение интенсивной полосы при 1636 см^{-1} , характерной карбонильной группе, снижение интенсивности и смещение полос поглощения, характерных для валентных колебаний $C-O$ и смещение полосы гидроксильных групп АГ с 2891 до 2886 см^{-1} .

Исследование растворимости образцов, полученных при совместной механообработке ТКБ и ПВП показало, что увеличение растворимости также существенно, но уступает таковому для комплекса ТКБ:АГ (ср.: табл. 1), причем тенденция увеличения растворимости механообработанных образцов сохраняется и составляет почти в 10 раз выше, чем растворимость физической смеси ТКБ:ПВП (1:9) (табл. 2).

Таблица 2

Изменение растворимости в образцах, полученных совместной механообработкой ТКБ и ПВП

№ п/п	Название образца	Растворимость	
		абсолютная, мг/л	увеличение
1	ТКБ – исх.субстанция	2,0	-
2	Физическая смесь ТКБ:ПВП(1:9)	4,4	2,2
3	Продукт механообработки (2 час)	7,0	3,5
4	Продукт механообработки (4 час)	11,0	5,5
5	Продукт механообработки (8 час)	17,1	8,6
6	Продукт механообработки (16 час)	34,8	17,4
7	Продукт механообработки (20 час)	57,7	28,9

Увеличение растворимости в образцах, полученных после механообработки мы также объясняли аналогично вышеописанному образованию межмолекулярных комплексов за счет водородных связей типа (ТКБ) $>NH...O=C<$ (ПВП).

Испытания на спонтанно инвазированных фасциолами овцах межмолекулярных комплексов ТКБ с ПВП и АГ при фасциолёзе овец показали высокую эффективность ($\mathcal{E}\mathcal{E} = 91,6\%$) против фасциол в дозах

1,0 мг/кг в 10 раз меньше по сравнению с базовым препаратом, тогда как базовый препарат триклабендазол в той же дозе эффективности не проявил – 27,9% [5]. Комплекс ТКБ с АГ, названный нами «триклафасцид» проявляет высокую эффективность в уменьшенной в 5 раз дозе и был безопасным при фасциолёзе овец. Триклафасцид хорошо суспендируется в воде, его удобно дозировать и задавать индивидуально перорально, а также им можно дегельминтизировать животных вольным вскармливанием в смеси с кормом индивидуально или групповым методом. Препарат обладает хорошей растворимостью, биологической доступностью к гельминтам, не токсичен, повышает антигельминтную и экономическую эффективность.

Заключение. По результатам проведенных исследований установлено, что при совместной механообработке субстанции триклабендазола с полимерами (ПВП, арабиногалактан) получают межмолекулярные комплексы, что подтверждено данными ИК-спектральных исследований и увеличением растворимости до 50 раз.

Благодарность: Выражаем благодарность коллегам из ИНЭОС РАН: Локишину Б.В., д.х.н., проф., зав. лаб. молекулярной спектроскопии за помощь в снятии и интерпретации данных ИК-спектров; Ильину М.М., к.х.н., н.с. лаб. стереохимии сорбционных процессов за помощь в определении растворимости механообразцов методом ВЭЖХ; Халикову С.С., д.т.н., в.н.с. лаб. физиологически активных фторорганических соединений за консультацию при выполнении экспериментальной части работы и ее обсуждении.

Литература

1. Патент РФ №2640482. Мусавев М.Б., Архипов И.А., Халиков С.С., Миленина М.В., Душкин А.В., Халиков М.С., Скачкова И.И. Супрамолекулярный комплекс триклабендазола для лечения животных при фасциолёзе. Заявка: 2016115779 от 22.04.2016. Опубликовано: 09.01.2018. Бюл. № 1.
2. Халиков С.С., Архипов И.А., Варламова А.И., Халиков М.С., Чистяченко Ю.С., Душкин А.В. Экологически безопасные антигельминтные препараты в ряду бензимидазолов: синтез, свойства, применение // Юг России: экология, развитие. 2016. № 1. С. 178–192.
3. Душкин А.В., Метелева Е.С., Чистяченко Ю.С., Халиков С.С. Механохимическое получение и свойства твердых дисперсий, образующих водорастворимые супрамолекулярные системы // Фунд. исслед. 2013. № 1. Часть 3. С. 741–749.

4. Kelbysheva E., Telegina L., Strelkova T., Ezernitskaya M., Nosova E., Borisov Yu., Lokshin B., Loim N. Spectroscopic Studies of Photochemical Transformations of Cymantrenylquinazolinone Derivatives // *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2018. № 18. P. 1945–1952.
5. Архипов И.А., Халиков С.С., Душкин А.В., Варламова А.И., Мусаев М.Б., Поляков Н.Э., Чистяченко Ю.С., Садов К.М., Халиков М.С. Супрамолекулярные комплексы антигельминтных бензимидазольных препаратов, получение и свойства. М.: Новые авторы, 2017. 90 с.

References

1. Patent of the Russian Federation №2640482. Musaev M.B., Arkhipov I.A., Khalikov S.S., Milenina M.V., Dushkin A.V., Khalikov M.S., Skachkova I.I. Supramolecular complex of triclabendazole for the treatment of animals with fascioliasis. - Application: 2016115779 from 04.22.2016. Published: 01.09.2018. Bul. No. 1. (In Russ.)
2. Khalikov S.S., Arkhipov I.A., Varlamova A.I., Khalikov M.S., Chistyachenko Yu.S., Dushkin A.V. Environmentally friendly antihelminthic drugs in benzimidazoles family: synthesis, properties, use // *South of Russia: ecology, development*. – 2016. – No.1. - P. 1778-192. (In Russ.)
3. Dushkin A.V., Meteleva E.S., Chistyachenko Yu.S., Khalikov S.S. Mechanochemical production and properties of solid dispersions forming water-soluble supramolecular systems // *Fund. researches*. - 2013. – No.1. - part 3. - P. 741-749. (In Russ.)
4. Kelbysheva E., Telegina L., Strelkova T., Ezernitskaya M., Nosova E., Borisov Yu., Lokshin B., Loim N. Spectroscopic Studies of Photochemical Transformations of Cymantrenylquinazolinone Derivatives // *European Journal of Inorganic Chemistry*. - 2018. – No. 18. - P. 1945-1952.
5. Arkhipov I.A., Khalikov S.S., Dushkin A.V., Varlamova A.I., Musaev MB, Polyakov N.E., Chistyachenko Yu.S., Sadov K.M., Khalikov M.S. Supramolecular complexes of antihelminthic benzimidazole preparations, preparation and properties. - М.: “New Authors”, 2017. - 90 p. (In Russ.)