ТВЕРДЫЕ ДИСПЕРСИИ БЕНЗИМИДАЗОЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ПАРАЗИТОЛОГИИ

Халиков С. С.¹,

д.т.н., в.н.с. лаборатории фторорганических физиологически
активных соединений,
salavatkhalikov@mail.ru

Локшин Б. Ф.¹,

д.х.н., проф., зав.лабораторией молекулярной спектроскопии

Ильин М. М. (мл.)¹,

к.х.н., н.с. лаборатории сорбционных процессов

Варламова А. И.²,

к.в.н., с.н.с. лаборатория экспериментальной терапии

Архипов И. А.²,

д.в.н., проф., зав.лаборатория экспериментальной терапии

Аннотация

С целью повышения водорастворимости и биологической активности антигельминтиков (медамин, альбендазол, фенбендазол) методом совместной механообработки их субстанций с полимерами (ПВП, арабиногалактан) получены твердые дисперсии (ТД), представляющие собой легко сыпучие порошки. Анализ твердых дисперсий систем «ЛВ:полимер» на растворимость показал, что этот показатель зависит как от природы ЛВ, так и от полимера. Показана возможность увеличения водорастворимости медамина в более чем 50 раз, альбендазола в 27 раз и фенбендазола в 24 раза при варьировании времени их совместной механообработки с полимерами. ИК-спектральные исследования и сравнение их с литературными данными позволили предположить образование межмолекулярных комплексов за счет формирования водородной связи между характеристичными группами субстанций антигельминтиков и полимерами. Было показано, что ТД этих же субстанций с ПВП можно получить и альтернативным методом — путем растворения компонен-

¹ Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН (19991, Москва, ул. Вавилова, 28)

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» (11718 г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28)

тов в этаноле с последующим удалением растворителя. Эти ТД представляли собой слюдообразные твердые пленки и обладали большей растворимостью, чем ТД, полученные твердофазно. Сравнение нематоцидной активности ТД (АБЗ с ПВП и ФБЗ с ПВП), полученных альтернативными методами показали, что они обладают одинаковой активностью при дозе 2,0 мг/кг по ДВ при испытаниях на лабораторной модели трихинеллеза на белых мышах, экспериментально инвазированных *T. spiralis*. ТД альбендазола с ПВП и АГ показали высокую эффективность при трихинеллезе и гименолепидозе белых мышей. Эти результаты были подтверждены при нематодирозе и других желудочно-кишечных стронгилятозах овец. ТД фенбендазола с АГ показала 100%-ную эффективность при диктиокаулезе, стронгилоидозе и стронгилятозах пищеварительного тракта и 98,3%-ную активность при трихоцефалезе овец. Полученные данные указывают на перспективность механохимического подхода для разработки инновационных антигельминтиков с повышенной растворимостью и высокой биологической эффективностью.

Ключевые слова: твердые дисперсии, бензимидазолы, антигельминтная активность.

SOLID DISPERSIONS OF BENZIMIDAZOL PREPARATIONS IN PARASITOLOGY

Khalikov S. S. ¹,

Doctor of Engineering Sciences, Leading Researcher
of the Laboratory of fluororganic physiologically active compounds,
salavatkhalikov@mail.ru

Lokshin B. F. ¹,

Doctor of Chemical Sciences, Prof., Head of the Laboratory of the molecular spectroscopy

Ilyin M. M. (Jr.) ¹,

Candidate of Chemical Sciences, Researcher in the Sorption laboratory

Varlamova A. I. ²,

Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of
Experimental Therapy

Arkhipov I. A. ²,

¹ A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds RAS (119991, Moscow, Vavilova st., 28)

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 Chermushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia)

Doctor of Veterinary Sciences, Prof., Head of the Laboratory of the Experimental Therapy

Abstract

In order to increase the water solubility and biological activity of antihelminthics (medamin /BMC/, albendazole /ABZ/, fenbendazol /FBZ/) by the method of joint machining of their substances with polymers (PVP, arabinogalactan), solid dispersions (SD), which are easily flowing powders, were obtained. The analysis of solid dispersions of the "Drug: polymer" systems for solubility showed that this indicator depends on both the nature of the Drug and the Polymer. The possibility of increasing the water solubility of medamin by more than 50 times, albendazole by 27 times and fenbendazole by 24 times with varying times of their joint machining with polymers is shown. IR spectral studies and comparison with reference data suggest the formation of intermolecular complexes due to the formation of a hydrogen bond between the characteristic groups of antihelminthic substances and polymers. It was shown that solid dispersions of these substances with PVP can be obtained by an alternative method, i.e. by dissolving the components in ethanol and then removing the solvent. These SDs were mica-like solid films and had greater solubility than SDs produced in solid state. Comparison of the nematocidal activity of SD (ABZ with PVP and FBZ with PVP) obtained by alternative methods showed that they have the same activity at a dose of 2.0 mg/kg of active substances when tested on a laboratory model of trichinosis in white mice experimentally infused with *T. spiralis*. SD of ABZ with PVP and AG showed high efficacy in treatment of trichinosis and hymenolepiasis in white mice. These results were confirmed during treatment of nematodiosis and other gastrointestinal strongylatosis in sheep. SD of FBZ with arabinogalactane showed 100% efficacy in treatment of dictiocaulosis, strongyloidosis, and strongylatosis of the digestive tract and 98.3% activity in treatment of trichocephalosis in sheep. The obtained data indicate the promise of a mechanochemical approach for the development of innovative antihelminthics with increased solubility and high biological efficiency.

Keywords: solid dispersions, benzimidazoles, anthelmintic activity.

Введение. Процессы механообработки (измельчение, смешение, пресование и пр.) играют важную роль в приготовлении ряда лекарственных форм и их влияние на свойства готового препарата нельзя не учитывать [1]. Так, при совместном измельчении лекарственных субстанций с вспомогательными веществами получают твердые дисперсии (ТД) [2], которые, как правило, повышают растворимость и биологическую доступность малорастворимых лекарственных веществ (ЛВ). В связи с такими преимуществами ТД, разработаны альтернативные методы их получения, в том числе, метод растворения компонентов (ЛВ, вспомогательные компоненты) с последующим испарением растворителей; метод плавления компонентов, метод соосаждения и др. [3].

Нами предложен оригинальный метод получения ТД путем совместной твердофазной обработки субстанций плохорастворимых ЛВ с водорастворимыми полимерами в измельчителях-активаторах с регулируемой энергонапряженностью [4]. Этот метод имеет целый ряд преимуществ перед известными, а именно, полное исключение из процесса растворителей, одностадийность, экологическая безопасность, возможность масштабирования, гибкость технологии.

Цель работы — получить ТД медамина, альбендазола и фенбендазола с ПВП и арабиногалактаном, провести их анализ методами ИК-спектроскопии и водорастворимости, а также обсудить полученные результаты.

Материалы и методы. В работе использованы субстанции следующих антигельминтиков:

- Карбендацим (БМК) — (1Н-бензимидазол-2-ил)-карбамат. Субстанция производства ООО «Экохимтех» (г. Уфа) серии 230106 (сод. 97%).
- Альбендазол (АБЗ) — метил [5-(пропилтио)-1Н-бензимидазол-2-ил]-карбамат. Субстанция серии 60116022 (сод. 99%) производство Changzhou Jialing Medicine Industry Co.Ltd (КНР).
- Фенбендазол (ФБЗ) — метил [6-(фенилтио)-1Н-бензимидазол-2-ил]карбамат. Субстанция серии 60111706 (сод. 98%), производство Renzin Chemicals Ltd. (КНР).

В качестве водорастворимых полимеров были использованы:

- 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.

Механохимическая технология приготовления твердых дисперсий. Процесс получения ТД проводили в металлическом барабане (объем 800 мл) при совместной (весовое соотношение ЛВ:полимер=1:9) механообработке компонентов и вращении валков мельницы LE-101 со скоростью 60 об/мин. Модуль процесса 1:17. Полученные при различном времени активации (от 1 до 24 час) образцы ТД, представляющие собой легкосыпучие порошки, 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 [5]. По этой технологии были получены ТД следующих составов: БМК:ПВП=1:9; БМК:АГ=1:9; АБЗ:ПВП=1:9; АБЗ:АГ=1:9; ФБЗ:ПВП=1:9; ФБЗ:АГ=1:9.

Технология получения твердых дисперсий методом растворения. Согласно [6] в коническую колбу объемом 50 мл загрузили последовательно 1,5 г физической смеси БМК:ПВП=1:9 и 10 мл абсолютного этанола. Смесь перемешивали в течение 1 часа до образования прозрачной массы, которую перелили в чашку Петри и удалили остатки растворителя в потоке воздуха под тягой. Полученную прозрачную кристаллическую пленку измельчили до порошкообразного состояния в ступке. Аналогично были получены ТД состава АБЗ:ПВП=1:9, ФБЗ:ПВП=1:9 и ТКБ:ПВП=1:9.

Методика определения растворимости твердых дисперсий. Для определения растворимости полученных образцов ТД антигельминтиков, навески ТД в количестве 0,5 г растворялись в 10 мл дистиллированной воды при перемешивании в шейкере-инкубаторе (25°C, 180 об/мин.) в течение 3 ч. Концентрации ЛВ в растворе определяли методом обращенно-фазной ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1100 с диодной матрицей, с аналитической колонкой Hypersil HyPURITY Elite C18 (150×4.6 мм, 5 мкм); температура колонки 30°C. В качестве элюента применяли систему ацетонитрил – ацетатный буфер pH=3,4 (1:1) в изократическом режиме, скорость потока – 1 мл/мин, объем пробы – 1 мкл, детектирование на длинах волн: 254,8 нм (БМК); 230,8 нм (АБЗ) и 290,8 (ФБЗ). Концентрации ЛВ определялись относительно их специально приготовленных растворов в ДМСО [7].

ИК-спектры измеряли методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) на инфракрасном фурье-спектрометре VERTEX 70 v фирмы BRUKER (ФРГ) с использованием приставки НПВО GladyATR 50 фирмы PIKE (США) с алмазным рабочим элементом в области 4000–400 см⁻¹ со спектральным разрешением 4 см⁻¹. Спектры получены непосредственно от порошкообразных ТД без специальной предварительной подготовки. Измеренные спектры НПВО корректировали для учета зависимости глубины проникновения излучения в образец от длины волны с использованием программы, входящей в состав программного обеспечения OPUS 7.

Результаты исследований. Анализ изменения растворимости ЛВ в образцах ТД показал, что для БМК наблюдается значительное увеличение (более чем в 25 раз) растворимости в его ТД с арабиногалактаном и наблюдается корреляция между временем механообработки (м/о) и увеличением растворимости в ТД_{БМК:АГ=1:9}, а именно, увеличивается растворимость: в 25,7 раз по сравнению с исходной субстанцией (БМК); почти в 2 раза по сравнению с физической смесью (ФС_{БМК:АГ=1:9}), приготовленной в ступке перемешиванием исходных

компонентов. Исследования растворимости $ТД_{БМК:ПВП}$, полученных при варьировании времени механообработки приведены в табл. 2. Из данных таблицы 2 видно, что нет увеличения растворимости $ТД_{БМК:ПВП}$ по сравнению с таковым показателем для $\Phi C_{БМК:ПВП}$, что видимо объясняется высокими лиофильными свойствами ПВП по сравнению с АГ. И этот фактор оказывается более значимым, чем образование межмолекулярных комплексов.

Исследование растворимости образцов ТД, полученных из альбендазола и полимеров показало, что этот показатель зависит как от природы полимеров, так и условий обработки. Так, для $ТД_{АБЗ:ПВП=1:9}$ растворимость увеличивается почти в 4 раза по сравнению с физической смесью ($\Phi C_{АБЗ:ПВП=1:9}$), которая готовится в ступке, но с увеличением времени обработки нет существенного возрастания этого важного показателя (всего на 7–8%) при увеличении времени механообработки с 3 до 14 час. Такой результат можно объяснить тем, что межмолекулярный комплекс уже формируется на исходе 3 часовой механообработки. Кроме того, свой вклад в этот показатель вносит и гидрофильность самого полимера (как это было в системе БМК:ПВП). Подтверждением этого могут служить данные ИК-спектров исходных компонентов и их $ТД_{АБЗ:ПВП=1:9}$. В случае же ТД, приготовленных из АБЗ и АГ, абсолютное увеличение растворимости почти в три раза меньше таковых показателей для $ТД_{АБЗ:ПВП=1:9}$. Однако динамика увеличения растворимости $ТД_{АБЗ:АГ=1:9}$ по сравнению с таковым показателем для $\Phi C_{АБЗ:ПВП=1:9}$ превышает почти в 10 раз, что отличается от таковой динамики в системе БМК:ПВП (только в 2,7 раз). Это указывает на образование более прочных комплексов в системе «АБЗ–АГ», что подтверждается данными ИК-спектральных исследований. Анализ ТД, полученных из ФБЗ и полимеров (ПВП и АГ), показал, что: при увеличении времени обработки до 5 час идет заметное возрастание растворимости в случае обоих полимеров; с увеличением времени обработки показатели растворимости падают и неоднозначно для двух сравниваемых полимеров, а именно, увеличение обработки приводит к существенному уменьшению растворимости (в 3–7 раз по сравнению с максимальным значением при 5-и часовой обработке). Анализ данных растворимости ТД из ФБЗ и ПВП также указывает на снижение растворимости ТД, полученных после 5 час обработки, с той лишь разницей, что растворимость уменьшается всего в 1,5–2 раза. Такие данные могут указывать на то, что образование комплексов происходит в случае ФБЗ за более короткое время, чем в случае АБЗ. Более того, полученные нами ТД из БМК,

АБЗ и ПВП методом растворения в среде абсолютного этанола по известной методике [6] имели аналогичные спектры с ТД, полученными методом механообработки. В связи с этим представляло интерес сравнить биологическую активность ТД, полученных двумя альтернативными методами. Биологические испытания синтезированных твердых дисперсий были проведены под руководством проф. Архипова И.А. [8–10]. ТД альбендазола с ПВП и АГ показали высокую эффективность при трихинеллезе и гименолепидозе белых мышей. Эти результаты были подтверждены при нематодирозе и других желудочно-кишечных стронгилятозах овец. ТД фенбендазола показали 100%-ную эффективность при диктиокаулезе, стронгилоидозе и стронгилятозах пищеварительного тракта и 98,3%-ную активность при трихоцефалезе овец.

Заключение. На основе проведенных исследований установлено, что ТД бензимидазолов с полимерами обладали повышенной растворимостью и биологической активностью, что позволяет считать метод твердофазной механохимической модификации ЛВ перспективным в получении инновационных антигельминтных препаратов.

Литература

1. Дубинская А.М. Механохимия лекарственных веществ // Хим-фарм. журн. 1989. № 23(2). С. 755–764.
2. Тенцова А.И., Добротворский А.Е. Твёрдые дисперсные системы в фармации // Фармация. 1981. № 2. С. 65–69.
3. Kalia A., Poddar M. Solid Dispersions: an Approach towards Enhancing Dissolution Rate- a Review // Int. J Pharm.Sci. 2011. № 3(4). P. 9–19.
4. Душкин А.В., Сунцова Л.П., Халиков С.С. Механохимическая технология для повышения растворимости лекарственных веществ // Фунд. исслед. 2013. № 1(2). С. 448–455.
5. 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.
6. Kalaiselvan R., Mohanta G.P., Manna P.K., Manavalan R. Studies on mechanism of enhanced dissolution of albendazole solid dispersions with crystalline carriers // Indian Journal of Pharm. Sci., Sept-Oct. 2006. P. 599–607.
7. Chistyachenko Y.S., Meteleva E.S., Pakharukova M.Y. et al. Physicochemical and pharmacological study of the newly synthesized complex of albendazole and polysaccharide arabinogalactan from larch wood // Current Drug Delivery. 2015. Vol. 12. № 5. P. 477–490.
8. Глазздин И.И., Архипов И.А. и др. Антигельминтная эффективность лекарственных форм альбендазола, полученных по механохимической

технологии и использованием адресной доставки DRUG DELIVERY SYSTEM на лабораторной модели // Российский паразитологический журнал. 2013. № 36(3). С. 92–95.

9. Гламаздин И.И., Архипов И.А. и др. Эффективность лекарственных форм альбендазола как средств доставки, полученных по механохимической технологии при нематодозах овец // Ветеринария. 2014. № 5. С. 32–36.
10. Варламова А.И., Архипов И.А. и др. Антигельминтное средство и способ его получения // Пат. РФ 2558922. Оpubл. 10.08.2015. Бюлл. № 22.

References

1. Dubinskaya A.M. Mechanochemistry of medicinal substances. *Chem-pharm. journal*. 1989; (23(2)): 755–764. (In Russ.)
2. Tentsova A.I., Dobrotvorskyy A.E. Solid disperse systems in pharmacy. *Pharmacy*. 1981; (2): 65–69. (In Russ.)
3. Kalia A., Poddar M. Solid Dispersions: an Approach towards Enhancing Dissolution Rate- a Review. *Int. J Pharm. Sci*. 2011; (3(4)): 9–19.
4. Dushkin A.V., Suntsova L.P., Khalikov S.S. Mechanochemical technology to increase the solubility of drugs. *Fund. Researches*. 2013; (1(2)): 448–455. (In Russ.)
5. 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; (1(3)): 741–749. (In Russ.)
6. Kalaiselvan R., Mohanta G.P., Manna P.K., Manavalan R. Studies on mechanism of enhanced dissolution of albendazole solid dispersions with crystalline carriers. *Indian Journal of Pharm. Sci*. Sept-Oct 2006. P. 599-607.
7. Chistyachenko Y.S., Meteleva E.S., Pakharukova M.Y. et al. Physicochemical and pharmacological study of the newly synthesized complex of albendazole and polysaccharide arabinogalactan from larch wood. *Current Drug Delivery*. 2015; 12(5): 477–490.
8. Glamazdin I.I., Arkhipov I.A. et al. Antihelminthic efficacy of albendazole pharmaceutical dosage forms obtained with the help of mechanochemical technology and the use of targeted delivery of DRUG DELIVERY SYSTEM on a laboratory model. *Rus. parasitology journal*. 2013; (36(3)): 92–95. (In Russ.)
9. Glamazdin I.I., Arkhipov I.A. et al. The effectiveness of pharmaceutical dosage forms of albendazole as a means of delivery, obtained by mechanochemical technology for treatment of nematodosis in sheep. *Veterinary*. 2014; (5): 32–36. (In Russ.)
10. Varlamova A.I., Arkhipov I.A. et al. Antihelminthic agent and method for its preparing. Pat. RF 2558922. Publ. 08.08.2015. Bull. № 22. (In Russ.)