

СТАТЬЯ

УДК 547.8:542.816

ВЫСВОБОЖДЕНИЕ СУБСТАНЦИЙ ФЕНБЕНДАЗОЛА И ФЕНАСАЛА ИЗ ИХ ТВЕРДЫХ ДИСПЕРСИЙ**Халиков С.С., Кононова Е.Г., Халиков М.С., Ильин М.М.***ФГБУН «Институт элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова»
Российской академии наук, Москва, e-mail: khalikov_ss@ineos.ac.ru*

Целью исследования является изучение высвобождения субстанций фенбендазола (ФБЗ) и фенасала (ФНС) из их твердых дисперсий (ТД), полученных при их механообработке с поливинилпирролидоном в различных типах измельчителей-активаторов. Процессы механообработки проводили в валковой мельнице LE-101 и планетарно-центрибежном активаторе АГО-2 при различной энергонапряженности. Полученные продукты механообработки представляли собой твердые дисперсии (ТД) в виде сыпучих порошков с повышенной растворимостью в воде. Высвобождение субстанций ФБЗ и ФНС проводили на лабораторной установке, состоящей из термостатированного стакана с буферными растворами с pH = 9,18 (среда кишечника) и pH = 1,0 (среда желудка). Концентрацию субстанций в диализате определяли методами ВЭЖХ и УФ-спектроскопии. Установлено, что высвобождение субстанций в буферный раствор с pH = 9,18 из ТД, полученных в валковой мельнице, выше, чем таковых, полученных в активаторе АГО, что связано с различием в растворимости полученных композиций и их спеканием в агломераты. При диализе экспериментальных составов в модельной системе со средой желудочного сока (pH = 1,0) наблюдается лишь проникновение через мембрану субстанции ФБЗ, что объясняется протонированием молекулы ФБЗ, являющейся слабым основанием. В УФ-спектрах диализатов с pH = 9,18 наблюдаются дополнительные полосы поглощения в области 377–380 нм, указывающие на образование супрамолекулярных комплексов фенасала с ПВП.

Ключевые слова: фенбендазол, фенасал, ПВП, смешевые композиции, твердые дисперсии, высвобождение в модельных системах желудка и кишечника

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-26-20055 и Министерства науки и высшего образования РФ с использованием научного оборудования центра исследования строения молекул Института элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова Российской академии наук.

RELEASE OF FENBENDAZOLE AND PHENASAL SUBSTANCES FROM THEIR SOLID DISPERSIONS**Khalikov S.S., Kononova E.G., Khalikov M.S., Ilin M.M.***A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of Russian Academy of Sciences,
Moscow, e-mail: khalikov_ss@ineos.ac.ru*

The purpose of this work is to study the release of the substances fenbendazole (FBZ) and phenasal (FNS) from their solid dispersions (SD), obtained by mechanical processing of polyvinylpyrrolidone in various types of grinder-activators. Mechanical processing processes were carried out in a LE-101 roller mill and an AGO-2 planetary-centrifugal activator at different energy intensity. The resulting mechanical processing products were solid dispersions (SD) in the form of free-flowing powders with increased solubility in water. The release of FBZ and FNS substances was carried out in a laboratory equipment, consisting of a thermostated glass with buffer solutions at pH = 9.18 (intestinal environment) and pH = 1.0 (stomach environment). The concentration of substances in the dialysate was determined by HPLC and UV spectroscopy. It has been established that the release of substances into a buffer solution with pH = 9.18 from SD's obtained in a roller mill is higher than those obtained in the AGO activator, which is due to the difference in the solubility of the resulting compositions and their sintering into agglomerates. When dialysis of experimental compounds in a model system with a gastric juice environment (pH = 1.0), only penetration of the FBZ substance through the membrane is observed, which is explained by the protonation of the FBZ molecule, which is a weak base. In the UV spectra of dialysates with pH = 9.18, additional absorption bands are observed in the region of 377-380 nm, indicating the formation of supramolecular complexes of phenasal with PVP.

Keywords: fenbendazole, fenasal, PVP, mixed compositions, solid dispersions, release in model systems of the stomach and intestines

The work was carried out with the financial support of a grant from the Russian Science Foundation No. 22-26-20055 and the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation using scientific equipment of the Center for the Study of the Structure of Molecules of the Institute of Organoelement Compounds named after A.N. Nesmeyanov Russian Academy of Sciences.

Оценка высвобождения лекарственных веществ (ЛВ) через полупроницаемую мембрану является одним из важных этапов в поиске и разработке перспективного пре-

парата [1]. Мембраны, используемые в исследованиях высвобождения *in vitro*, были разработаны для обеспечения постоянного контакта между лекарственной формой

(ЛФ) и рецепторной средой. При этом мембраны не должны проявлять какого-либо физического или химического взаимодействия с лекарственной субстанцией (ЛС) и должны быть совместимы с рецепторной средой и обеспечивать минимально возможное сопротивление диффузии действующего вещества.

В качестве мембраны используют различные материалы, чаще целлофановую пленку. Целлофан инертен, не вступает во взаимодействие ни с субстанцией, ни с компонентами лекарственной формы, а его толщина оказывает незначительное влияние на диффузию ЛВ. Существуют две основные группы мембран – натуральные и искусственные [2]. Синтетические мембраны широко используются для определения скорости высвобождения активного соединения *in vitro* из различных ЛФ. Их основными преимуществами являются доступность, стабильность и эффективность использования в ходе эксперимента. Основным преимуществом синтетических мембран по отношению к натуральным является однородность их состава и стабильность свойств от партии к партии. На сегодняшний день на рынке представлено большое количество синтетических мембран на основе целлюлозы, ее производных и различных полимеров.

Важным аспектом в исследованиях высвобождения является выбор рецепторной среды. Рецепторная среда должна обладать способностью к солюбилизации исследуемого вещества, хорошо перемешиваться и не ограничивать диффузию исследуемого вещества [2]. Чаще всего используемыми рецепторными средами для водорастворимых лекарственных средств являются вода очищенная, буферные растворы и изотонический раствор натрия хлорида. Однако для препаратов с нерастворимым в воде ЛВ выбор подходящей рецепторной среды является сложной задачей. В наших исследованиях рецепторная среда имитировала физиологически активные среды желудка и кишечника.

Цель исследования – изучить особенности высвобождения ФБЗ и ФНС из их твердых дисперсий различных составов, полученных в различных типах измельчителей-активаторов.

Материалы и методы исследования

Фенбендазол (ФБЗ) – 5-(фенилтио)-2-бензимидазолкарбамат (99,0%) фирмы Changzhou Yabang Pharmaceuticals Co. Ltd (КНР). Растворимость в воде 1,0 мг/л. $T_{пл} = +233\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Фенасал (ФНС) – 5-хлор-N-(2-хлор-4-нитрофенил)-2-гидроксибензамид (99,3%) компании Ghangzhou Yabang-Qh Pharmachem Co, Ltd. (КНР). Растворимость в воде 5,0 мг/л. $T_{пл} = +225 - +230\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Поливинилпирролидон (ПВП) – 1 этенилпирролидин-2-он марки K-15 компании Voai NKY Pharmaceuticals Ltd. (КНР).

Для получения экспериментальных составов в виде твердых дисперсий:

- состав № 1 – ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78),
- состав № 2 – ФБЗ:ФНС:ПВП (3:30:67),
- состав № 3 – ФБЗ:ФНС:ПВП (4:40:56) –

использовались валковая мельница LE-101 и еще планетарно-центробежный активатор АГО-2.

Приготовление экспериментальных составов в валковой мельнице LE-101. Для получения ТД состава № 1 проводили совместную механообработку субстанций ФБЗ и ФНС с ПВП в условиях [3]. Компоненты загружали в массовых соотношениях 2:20:78 в металлический барабан валковой мельницы LE-101. Барабан емкостью 0,8 см³ последовательно загружали предварительно приготовленной шихтой (физическая смесь) из 3,0 г ФБЗ, 30,0 г ФНС и 117,0 г ПВП. Далее в барабан добавили 1880 г стальных шаров (35 шаров диаметром 25 мм) и проводили механообработку в течение 4 ч с отбором проб на анализ растворимости, как параметра, контролирующего процесс получения оптимальной ТД. Основными факторами механообработки были:

- объем загрузки барабана – 60 %;
- модуль процесса – 1:16;
- энергонапряженность – 1 г.

После завершения процесса механообработки из барабана была выгружена твердая дисперсия состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78) /Состав № 1/ в количестве 148,8 г в виде сыпучего порошка светло-бежевого цвета.

Аналогично были приготовлены в валковой мельнице LE-101 твердые дисперсии состава № 2 (148,1 г) и состава № 3 (146,5 г).

Приготовление экспериментальных составов в планетарно-центробежном активаторе АГО-2. Шихту, приготовленную в фарфоровой ступке из 0,4 г ФБЗ, 4,0 г ФНС и 15,6 г ПВП, разделив на две равные части, поместили в два металлических барабана АГО-2, объемом 60 мл. Механообработку проводили при 20 г в течение 10 мин при следующих условиях:

- 300 г шаров (диаметр 5–6 мм);
- объем загрузки барабана – 60 %;
- модуль процесса – 1:38;
- энергонапряженность – 20g.

По окончании механообработки из двух барабанов выгрузили 18,5 г сыпучего желтого порошка композиции состава № 1 (образец под названием «1–20 g»).

Аналогично были приготовлены образцы:

- состава № 1
при 40 g (образец «1–40 g»)
и 60 g (образец «1–60 g»);
- состава № 2
при 20 g (образец «2–20 g»),
при 40 g (образец «2–40 g»)
и при 60 g (образец «2–60 g»);
- состава № 3
при 20 g (образец «3–20 g»),
при 40 g (образец «3–40 g»)
и при 60 g (образец «3–60 g»).

Для определения растворимости ФНС и ФБЗ в экспериментальных твердых дисперсиях в коническую колбу помещали 0,560 г соответствующей ТД и добавляли 10 мл воды. Перемешивали в течение 3 ч с использованием магнитной мешалки Heidolph MR 3001 K со скоростью 200–250 об/мин при 37 °С. Полученную при этом суспензию центрифугировали при следующих условиях:

- скорость центрифугирования 12500 об/мин;
- время центрифугирования 30 мин.

Полученные после центрифугирования прозрачные водные растворы анализировали методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1200 с колонкой Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6*50 мм; температура колонки +30 °С; детектор диодно-матричный. В качестве элюента применяли систему ацетонитрил-ацетатный буфер pH 3,4 (55:45), скорость потока – 1 мл/мин, объем пробы – 5 мкл [4].

УФ-спектры для высвобожденных субстанций ФБЗ и ФНС в буферном растворе бората натрия с pH = 9,18 и растворе 0,1 н соляной кислоты регистрировались [5] на компьютеризированном УФ-спектрометре Sprecord M-40 Carl Zeiss в кварцевых кюветах.

Для проведения метода диализа использовали лабораторную установку, состоя-

щую из термостатированного стакана, установленного на магнитной мешалке Heidolph MR 3001 K. В стакан помещали расчетный объем рецепторной среды, для которой поддерживалась температура 37±0,5 °С. Исследуемое количество ТД (около 0,5 г с точностью 0,001 г) наносили внутрь диализного мешка с полупроницаемой мембраной, которую потом погружали в стакан. Отбор проб диализата производили через равные промежутки времени с восполнением рецепторной среды. В качестве полупроницаемых мембран использовали нитроцеллюлозную мембрану (НЦМ), представляющую собой бумагоподобную матрицу [6], а также синтетические мембраны в виде диализных мешков Spectrapor фирмы Spectrum Medical Industry (США) и M-Cel фирмы Viscase (Франция) [7]. Для изучения процесса высвобождения компонентов экспериментальных составов были использованы следующие рецепторные среды:

- система (А), моделирующая среду кишечника (стандартный раствор тетрабората натрия Na₂B₄O₇·Х10Н₂O с pH = 9,18);
- система (В), моделирующая среду желудка (стандартный раствор 0,1 н соляной кислоты).

Содержание ФБЗ и ФНС в диализатах контролировали методами ВЭЖХ и данными УФ-спектров.

Результаты исследования и их обсуждение

Экспериментальные составы готовили и анализировали на растворимость, исходя из данных хроматограмм (рис. 1 и 2).

Условия приготовления экспериментальных составов представлены ниже:

(А) в валковой мельнице LE-101 с энергонапряженностью 1 g (в табл. 1 и 2 представлены данные по составу № 1 и его растворимости в динамике);

(В) в планетарно-центробежном активаторе АГО-2 с регулируемой (20, 40 и 60 g) энергонапряженностью.

Таблица 1

Растворимость фенбендазола (ФБЗ) в образцах ТД композиций ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78), полученных при варьировании времени механообработки (м/о)

№	Наименование образца, условия получения	Растворимость ФБЗ	
		абсолютная	увеличение
1	ФБЗ – исх. субстанция	1,0	–
2	Проба 1 оп. 090223(1) – ФС состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78)	1,8	2
3	Проба 2 оп. 090223(1) – ТД состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78), 2 ч м/о	11,3	11
4	Проба 3 оп. 090223(1) – ТД состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78), 3 ч м/о	43,2	43
5	Проба 4 оп. 090223(1) – ТД состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78), 4 ч м/о	45,1	45

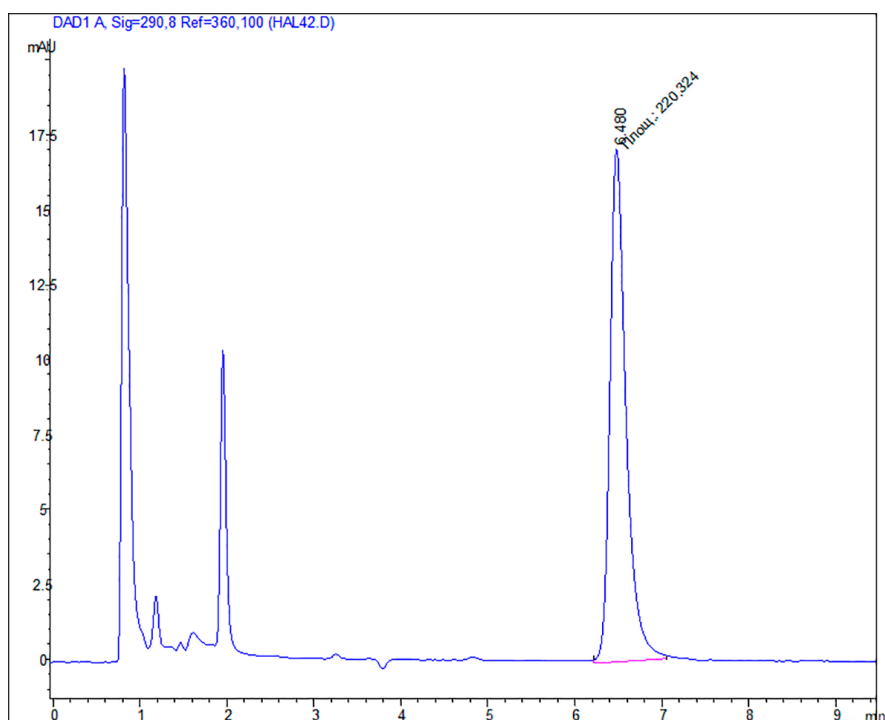


Рис. 1. Хроматограмма водного фильтрата состава № 1 для определения растворимости ФБЗ: $\lambda = 220, 290$ нм, 6,480 мин, 5 мкл

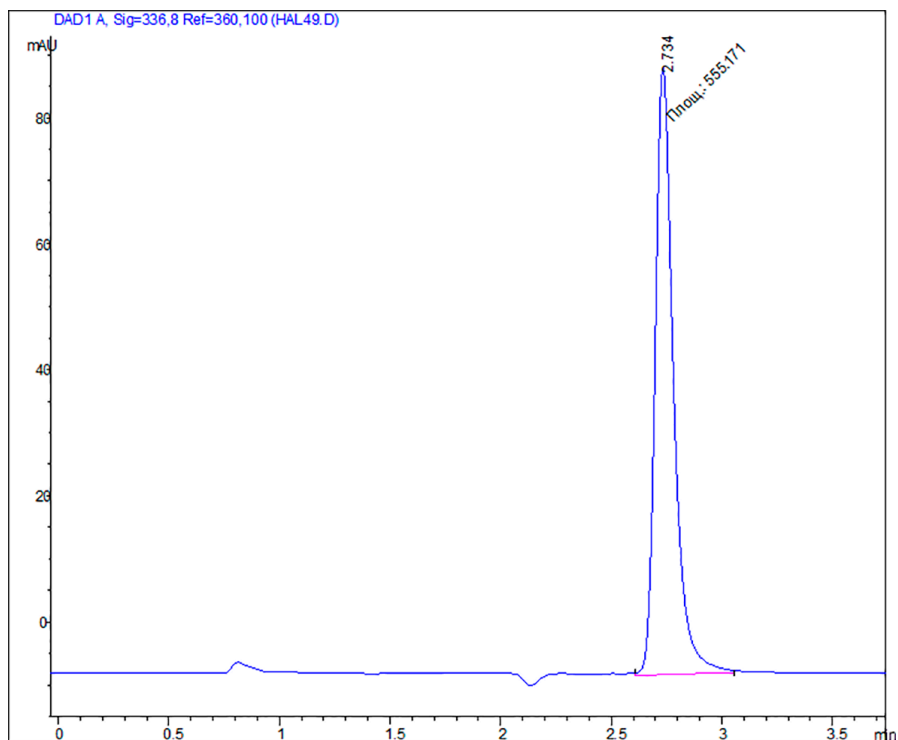


Рис. 2. Хроматограмма водного фильтрата состава № 1 для определения растворимости ФНС: $\lambda = 555, 336$ нм, 2,734 мин, 5 мкл

Таблица 2

Растворимость фенасала (ФНС) в образцах ТД композиций ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78), полученных при варьировании времени механообработки (м/о)

№	Наименование образца, условия получения	Растворимость ФНС	
		абсолютная	увеличение
1	ФНС – исх. субстанция	5,0	–
2	Проба 1 оп. 090223(1) – ФС состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78)	60,0	12
3	Проба 2 оп. 090223(1) – ТД состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78), 2 ч м/о	130,2	26
4	Проба 3 оп. 090223(1) – ТД состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78), 3 ч м/о	315,1	63
5	Проба 4 оп. 090223(1) – ТД состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78), 4 ч м/о	329,5	66

Таблица 3

Данные диализа ФНС за 192 ч из образцов ТД, полученных в планетарно-центрибежном активаторе АГО-2

№ образца	Информация об образце	% высвобождения ФНС
№ 0	Техническая смесь ФБЗ и ФНС	1,0%
№ 1 – образец 1–20 g	ТД состава ФБЗ:ФНС:ПВП (2:20:78)	16,2%
№ 2 – образец 2–40 g	ТД состава ФБЗ:ФНС:ПВП (3:30:67)	6,7%
№ 3 – образец 3–60 g	ТД состава ФБЗ:ФНС:ПВП (4:40:56)	5,6%

Анализ данных табл. 1 указывает на то, что увеличение времени механообработки приводит к улучшению растворимости ФБЗ. Однако этот параметр имеет ограничение, и обработка в течение 4 ч не приводит к существенному увеличению растворимости ФБЗ. Поэтому это время обработки и было выбрано оптимальным для получения ТД состава № 1. Это оптимальное время было подтверждено и по анализу растворимости ФНС при получении состава № 1 (табл. 2), увеличение показателя до 66 раз.

Аналогично была изучена растворимость ФБЗ и ФНС из составов № 2 и 3, и было показано, что:

– в составе № 2 наблюдается увеличение растворимости ФБЗ в 38 раз и ФНС в 52 раза;

– в составе № 3 – увеличение растворимости ФБЗ в 31 раз и ФНС в 37 раз.

Растворимость компонентов (ФБЗ и ФНС) из ТД, полученных в АГО-2, значительно уступала и составляла: по ФБЗ – в 5–12 раз, ФНС – в 9–20 раз. Такой результат можно объяснить образованием спекшихся агломератов в жестких условиях механообработки в АГО-2.

При проведении диализа в буферный раствор с pH = 9,18 высвобождение ФБЗ

проходило, вероятно, с концентрацией ниже чувствительности метода. Этого надо было ожидать в связи с относительно низкой концентрацией ФБЗ в экспериментальных составах по сравнению с ФНС (сравн.: 2 и 20% /состав № 1/, 3 и 30% /состав № 2/, 4 и 40% /состав № 3/). Поэтому проводили анализ ВЭЖХ лишь одного компонента – ФНС, и результаты анализа представлены в табл. 3 и 4.

Из данных табл. 3 следует, что высвобождение ФНС из образцов, подвергнутых жесткой механообработке (например, 60 g), идет медленнее, чем из образцов при мягких условиях – 20 g.

Анализ данных табл. 4 показывает, что высвобождение ФНС из ТД, полученных в валковой мельнице, выше, чем таковых, полученных в АГО-2. Такой результат можно объяснить комплексобразованием, что косвенно подтверждается данными УФ-спектров образцов № 5, 6 и 7, в которых наблюдается появление новой полосы в области 377–380 нм, что отличается от полос поглощения ФБЗ (290 нм) и ФНС (336 нм) (рис. 3, а, б).

Весьма интересные данные были обнаружены при диализе составов № 1, 2 и 3 в среде желудочного сока. Из указанных ТД в диализат проходит лишь ФБЗ (рис. 4).

Данные диализа ФНС за 48 ч из образцов ТД,
полученных в валковой мельнице LE-101 при механообработке за 4 ч

№ образца	Информация об образце	% высвобождения ФНС
№ 4 – физ. смесь состава № 1	ФС состава ФБЗ:НФС:ПВП (2:20:78)	7,9%
№ 5 – состав № 1	ТД состава ФБЗ:НФС:ПВП (2:20:78)	27,3%
№ 6 – состав № 2	ТД состава ФБЗ:НФС:ПВП (3:30:67)	22,2%
№ 7 – состав № 3	ТД состава ФБЗ:НФС:ПВП (4:40:56)	16,7%

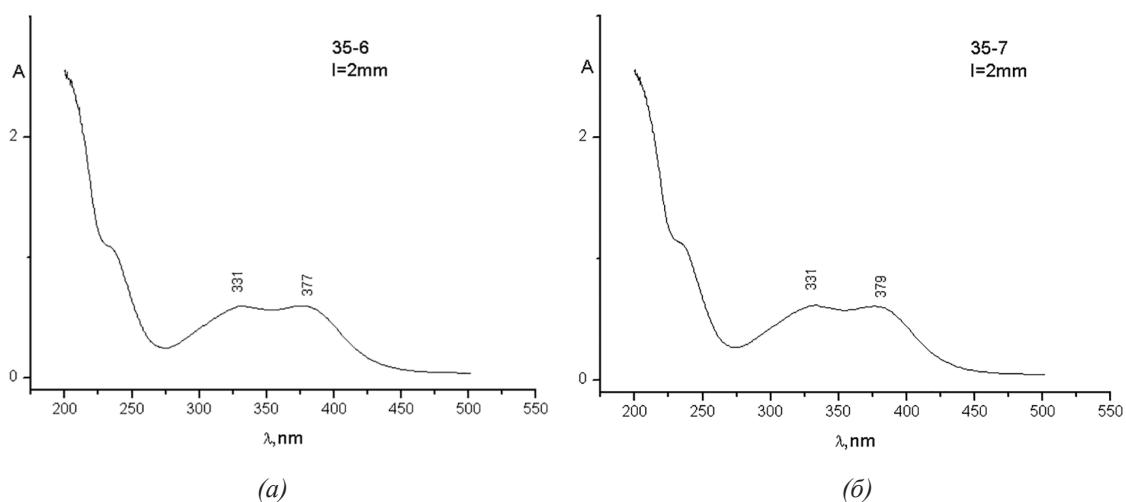


Рис. 3. УФ-спектры диализатов ТД состава № 2 (а) и состава № 3 (б)

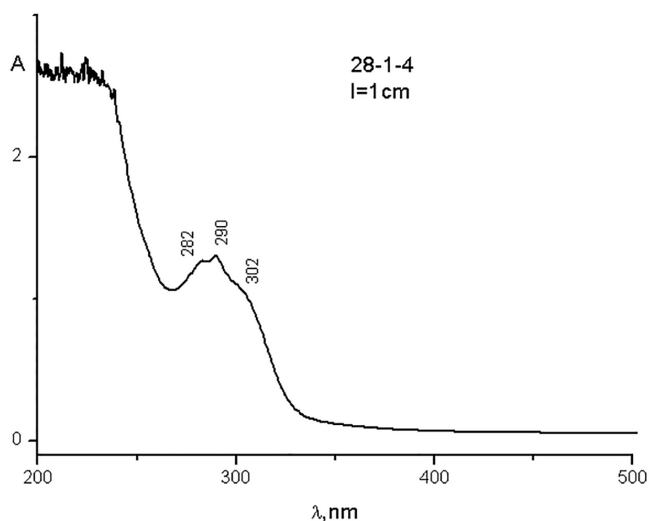


Рис. 4. УФ-спектр образца 1–20 г при диализе в 0,1 н HCl за 280 ч

Этот результат можно объяснить протонированием молекулы ФБЗ, являющейся слабым основанием. Молекула ФНС является нейтральной молекулой и поэтому не проникает через полупроницаемую перегородку в среду соляной кислоты, и она

полностью остается внутри диализного мешка (рис. 5).

Из данных рис. 5 видно, что внутри мешка остается смесь, в которой содержание ФБЗ уменьшилось, а содержание ФНС осталось без изменения.

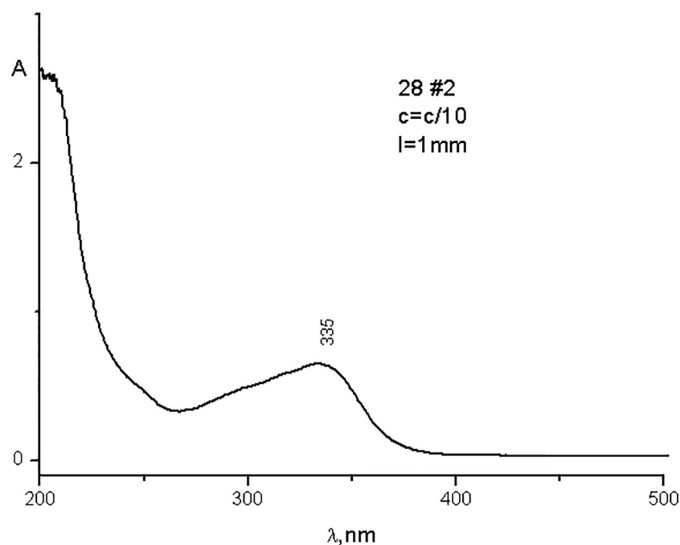


Рис. 5. УФ-спектр раствора из ТД состава № 1 (1–20 г), оставшегося внутри диализного мешка после диализа в соляную кислоту в течение 280 ч

Заключение

Проведенные исследования по высвобождению активных субстанций ФБЗ и ФНС из ТД, полученных в валковой мельнице LE-101 и планетарно-центрибежном активаторе АГО-2, показали, что диализ этих компонентов происходит в среду желудочного сока и среду, моделирующую кишечник, по различным механизмам, которые требуют дальнейших исследований.

Список литературы

1. Olejnik A., Goscianska J., Nowak I. Active Compounds Release from Semisolid Dosage Forms // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012. Vol. 101, Is. 11. P. 4032–4045. DOI: 10.1002/jps.23289.

2. Petró E., Paal T., István E., Alexander K., Baki G., Csoka I. Drug release from semisolid dosage forms: A comparison of two testing methods // *Pharmaceutical Development and Technology*. 2013. Vol. 20, Is. 3. P. 330–336. DOI: 10.3109/10837450.2013.867446.

3. Халиков С.С., Евсеенко В.И., Варламова А.И., Халиков М.С., Ильин М.М., Метелева Е.С., Архипов И.А. Получение комплексных антигельминтных препаратов методами механохимии // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2023. № 2. С. 44–52. DOI: 10.17513/mjpf.13512.

4. Khalikov S.S., Khakina E.A., Khalikov M.S., Varlamova A.I. Solid Dispersions of Fenbendazole with Polymers and Succinic Acid Obtained via Methods of Mechanochemistry: Their Chemical Stability and Anthelmintic Efficacy // *Powders*. 2023. № 2. P. 727–736. DOI: 10.3390/powders2040045.

5. Косицына А.С., Фроленко Т.А. Применение методов оптической спектроскопии при изучении органических соединений: учеб. пособие. Красноярск: Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М. Ф. Решетнёва, 2018. 86 с.

6. Fridley G.E., Holstein C.A., Oza S.B., Yager P. The evolution of nitrocellulose as a material for bioassays // *Mater. Res. Bull.* 2013. Vol. 38, Is. 4. P. 326–330. DOI: 10.1557/mrs.2013.60.

7. Squires T.M., Messinger R.J., Manalis S.R. Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors // *Nat. Biotechnol.* 2008. Vol. 26, Is. 4. P. 417–426. DOI: 10.1038/nbt1388.