

Научная статья

УДК 619:616.995.1-085

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-1-100-111>

Диализ лекарственных препаратов через полупроницаемую мембрану как предварительная оценка эффективности перспективного паразитоцидного препарата

Салават Самадович Халиков¹, Марат Салаватович Халиков²,
Елена Германовна Кононова³, Михаил Михайлович Ильин⁴, Иван Алексеевич Архипов⁵,
Анастасия Ивановна Варламова⁶

¹⁻⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук, Москва, Россия

^{2,5,6} 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» (ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), Москва, Россия

¹ khalikov_ss@ineos.ac.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4736-5934>

² marat.halikov.88@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3014-7383>

³ lena.kononova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9602-0158>

⁴ kotosok1978@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-1768-5048>

⁵ arkhypovhelm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5165-0706>

⁶ arspshoeb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8364-5055>

Аннотация

Цель исследований – провести анализ динамики высвобождения фенбендазола (ФБЗ) и никлозамида (НЗМ) из их твердых дисперсий (ТД) различных составов методом диализа через различные полупроницаемые мембраны в модельных системах, соответствующих среде желудка и кишечника. Оценить паразитоцидную активность экспериментальных смесевых композиций.

Материалы и методы. В работе использованы субстанции ФБЗ и НЗМ, полимер – поливинилпирролидон (ПВП). Процессы механообработки проводили в валковой мельнице LE-101 и планетарно-центробежной мельнице АГО-2 при различной энергонапряженности. Полученные при этом ТД различных составов изучали на растворимость. Динамику высвобождения субстанций ФБЗ и ФНС из ТД изучали на лабораторной установке, состоящей из термостатированного стакана с буферными растворами с рН = 9,18 (среда кишечника) и рН = 1,0 (среда желудка). Концентрацию субстанций в диализате определяли методами ВЭЖХ и УФ-спектроскопии. Полученные комплексные ТД ФБЗ и НЗМ были изучены на цестодоцидную активность на лабораторной модели гименолепидоза у белых мышей.

Результаты и обсуждение. Установлено, что высвобождение субстанций в буферный раствор с рН = 9,18 из ТД, полученных в валковой мельнице, выше, чем у ТД, полученных в активаторе АГО. При диализе экспериментальных составов в модельной системе со средой желудочного сока наблюдается лишь проникновение через мембрану субстанции ФБЗ, что можно объяснить протонированием молекулы ФБЗ, являющейся слабым основанием. Молекула НЗМ, являясь нейтральной молекулой, не проникает через полупроницаемую перегородку в среду соляной кислоты; она полностью остается внутри диализного мешка. Высокие показатели антигельминтной эффективности (до 100%) комплексных ТД ФБЗ : НЗМ : ПВП, полученных в активаторе АГО и на валковой мельнице, отмечены для ТД состава 2 : 20 : 78 при гименолепидозе мышей. Активность базового препарата – субстанции никлозамида составила 27,69%, что в 3 раза ниже активности полученных комплексных дисперсий.

Ключевые слова: фенбендазол, никлозамид, поливинилпирролидон, смесевые композиции, твердые дисперсии, диализ, белые мыши, *Hymenolepis nana*



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Благодарности. Часть работы по получению твердых дисперсий и их анализу выполнена в рамках Государственного задания № 075-00277-24-00 при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ. Часть работы выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.), составляющей основу государственного задания № FGUG-2022-0012.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует.

Для цитирования: Халиков С. С., Халиков М. С., Кононова Е. Г., Ильин М. М., Архипов И. А., Варламова А. И. Диализ лекарственных препаратов через полупроницаемую мембрану как предварительная оценка эффективности перспективного паразитоцидного препарата // Российский паразитологический журнал. 2024. Т. 18. № 1. С. 100–111.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-1-100-111>

© Халиков С. С., Халиков М. С., Кононова Е. Г., Ильин М. М., Архипов И. А., Варламова А. И., 2024

Original article

Drug dialysis through a semipermeable membrane as a preliminary efficacy assessment of a promising parasitocidal drug

Salavat S. Khalikov¹, Marat S. Khalikov², Elena G. Kononova³, Mikhail M. Ilyin⁴,
Ivan A. Arkhipov⁵, Anastasia I. Varlamova⁶

¹⁻⁴Federal State Budgetary Institution of Science “Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^{2,5,6}All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV” (VNIIP – FSC VIEV), Moscow, Russia

¹khalikov_ss@ineos.ac.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4736-5934>

²marat.halikov.88@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3014-7383>

³lena.kononova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9602-0158>

⁴kotosok1978@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-1768-5048>

⁵arkhipovhelm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5165-0706>

⁶arsphoeb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8364-5055>

Abstract

The purpose of the research is to analyze the dynamics of fenbendazole (FBZ) and niclozamide (NZM) release from their solid dispersions (SD) of various compositions by dialysis through various semipermeable membranes in model systems that correspond to stomach and intestine environments. To evaluate the parasitocidal activity of experimental mixture compositions.

Materials and methods. The study used substances of FBZ and NZM, and the polymer, polyvinylpyrrolidone (PVP). Mechanical processes were carried out in a LE-101 roller mill and an AGO-2 orbital centrifugal mill at different power density levels. The resulting SD of various compositions were studied for solubility. The dynamics of FBZ and NZM substance release from the SD were studied in a laboratory setup consisting of a temperature controlled glass with buffer solutions with pH = 9.18 (intestinal environment) and pH = 1.0 (stomach environment). The substance concentration in the dialysate was determined by HPLC and UV spectroscopy. The resulting complex SD of FBZ and NZM were studied for cestodocidal activity in a laboratory model of hymenolepiosis of white mice.

Results and discussion. It was found that the substances release into a buffer solution with pH = 9.18 from the SD obtained in the roller mill is higher than that of the SD obtained in the AGO activator. The dialysis of the experimental compounds in a model system with a gastric juice medium observed only FBZ substance penetration through the

membrane, which can be explained by protonation of the FBZ molecule which is a weak base. The NZM molecule, being a neutral molecule, does not penetrate through the semi-permeable partition into the hydrochloric acid environment; it remains entirely inside the dialysis bag. High anthelmintic efficacy rates (up to 100%) of SD complex FBZ : NZM : PVP obtained in the AGO activator and in the roller mill were recorded for the SD of composition 2 : 20 : 78 in the mice with hymenolepiosis. The activity of the base drug, the niclozamide substance, was 27.69%, which is 3 times lower than the activity of the resulting complex dispersions.

Keywords: fenbendazole, niclozamide, polyvinylpyrrolidone, mixed compositions, solid dispersions, dialysis, white mice, *Hymenolepis nana*

Acknowledgments. Part of the work on obtaining solid dispersions and their analysis was carried out within the framework of State Assignment No. 075-00277-24-00 with financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation. Part of the work was carried out within the framework of the Program for Basic Scientific Research in the Russian Federation for the long-term period (2021–2030), which forms the basis of state assignment No. FGUG-2022-0012.

Financial transparency: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests.

For citation: Khalikov S. S., Khalikov M. S., Kononova E. G., Ilyin M. M., Arkhipov I. A., Varlamova A. I. Drug dialysis through a semipermeable membrane as a preliminary efficacy assessment of a promising parasitocidal drug. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2024;18(1):100–111. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-1-100-111>

© Khalikov S. S., Khalikov M. S., Kononova E. G., Ilyin M. M., Arkhipov I. A., Varlamova A. I., 2024

Введение

Высвобождение лекарственных субстанций (ЛС) через полупроницаемую мембрану из их лекарственных форм является одним из важных этапов в поиске и разработке перспективного препарата [4]. 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 лекарственных веществ (ЛВ).

Одним из важнейших этапов биофармацевтических исследований является выбор мембраны. Мембраны не должны проявлять какого-либо физического или химического взаимодействия с ЛС. Кроме того, мембраны должны быть совместимы с рецепторной средой и обеспечивать минимально возможное сопротивление диффузии ЛВ. Для исследований высвобождения можно использовать разные типы мембран – натуральные и искусственные. Синтетические мембраны широко используют для определения скорости высвобождения активного соединения *in vitro* из различных лекарственных форм. Их основными преимуществами являются доступность, стабильность и эффективность использования в ходе эксперимента.

На сегодняшний день на рынке представлено большое число синтетических мембран на основе целлюлозы, ее производных и различных полимеров. Нитроцеллюлозная мембрана (НЦМ) представляет собой бумагоподобную матрицу с микропористой структурой. НЦМ нашла широкое применение в биомедицинских областях благодаря уникальным физико-химическим свойствам, например, соответствующему размеру пор, большой площади поверхности и др. Кроме того, использование пористых НЦМ позволяет разрабатывать для здравоохранения недорогие материалы, методики и инструменты для диагностики и высокоэффективного тестирования [6].

Важным аспектом в исследованиях высвобождения является выбор рецепторной среды. Рецепторная среда должна обладать способностью к солюбилизации исследуемого вещества, хорошо перемешиваться; на протяжении всего исследования должен осуществляться контроль ее температуры. Состав среды выбирают таким образом, чтобы она не ограничивала диффузию исследуемого вещества [10]. Рецепторная среда в исследованиях высвобождения должна имитировать физиологически-активные среды желудка, кишечника и пр. Чаще всего используемыми рецепторными средами для водорастворимых лекар-

ственных средств являются вода очищенная, буферные растворы и изотонический раствор натрия хлорида [8]. Однако для препаратов с нерастворимым в воде ЛВ выбор подходящей рецепторной среды является сложной задачей. В целях облегчения мониторинга высвобождения таких ЛВ иногда требуется изменить рН среды, добавить поверхностно-активные вещества, например, лаурилсульфат натрия, или комплексообразователи, такие как циклодекстрины. Для липофильных молекул сывороточный альбумин, соответствующие солюбилизаторы или эмульгаторы добавляют в количествах, которые не должны нарушать целостность мембраны [9].

Целью нашего исследования был анализ динамики высвобождения ФБЗ и НЗМ из их твердых дисперсий различных составов методом диализа в модельных системах, соответствующих среде желудка и кишечника, а также оценка паразитоцидной активности экспериментальных смесевых композиций.

Материалы и методы

ФБЗ – 5-(фенилтио)-2-бензимидазолкарбамат (99,0%) фирмы Changzhou Yabang Pharmaceuticals Co. Ltd (КНР). Растворимость в воде 1,0 мг/л. Тпл = 233 °С.

НЗМ – 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. Тпл = 225–230 °С.

ПВП – 1 этенилпирролидин-2-он марки К-15 компании Voai NKY.

С использованием двух типов мельниц LE-101 и АГО-2, на основе исходных компонентов, были получены ТД фенобендазола и никлозамида следующих составов:

- состав № 1 – ФБЗ : НЗМ : ПВП (2 : 20 : 78);
- состав № 2 – ФБЗ : НЗМ : ПВП (3 : 30 : 67);
- состав № 3 – ФБЗ : НЗМ : ПВП (4 : 40 : 56).

Приготовление экспериментальных составов в валковой мельнице LE-101

Для получения ТД состава № 1 проводили совместную механообработку субстанций ФБЗ и НЗМ с ПВП в валковой мельнице [5]. Компоненты загружали в массовых соотношениях 2 : 20 : 78 в металлический барабан валковой мельницы LE-101. В барабан емкостью 0,8 см³ последовательно загружали пред-

варительно приготовленную смесь из 2,0 г ФБЗ, 20,0 г НЗМ и 78,0 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.

Основные факторы механообработки: объем загрузки барабана – 60%; модуль процесса – 1 : 16; энергонапряженность – 1 г.

После завершения процесса механообработки было получено 148,8 г ТД состава № 1 в виде сыпучего порошка светло бежевого цвета.

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

Приготовление экспериментальных составов в планетарно-центробежной мельнице АГО-2

Смесь, приготовленную в фарфоровой ступке из 0,4 г ФБЗ, 4,0 г НЗМ 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 – 20 г.

По окончании механообработки получено 18,5 г сыпучего желтоватого порошка композиции состава № 1 (образец под названием «1-20 г»).

Аналогично были приготовлены образцы:

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

Определение растворимости ФБЗ и НЗМ в экспериментальных ТД

В коническую колбу помещали 0,560 г соответствующей ТД и добавляли 10 мл воды [7]. Перемешивали в течение 3 ч с использованием магнитной мешалки Heidolph MR 3001K 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 на содержание ФБЗ (при длине волны 290 нм) и НЗМ (при длине волны 336 нм) методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1200 с колонкой Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 × 50 мм, температура колонки 300 °С, детектор диодно-матричный). В качестве элюента применяли систему ацетонитрил-ацетатный буфер рН 3,4 (55 : 45), скорость потока – 1 мл/мин., объем пробы – 5 мкл.

УФ-спектры для высвобожденных субстанций ФБЗ и НЗМ в буферном растворе бората натрия с рН = 9,18 (среда кишечника) и растворе 0,1 н соляной кислоты (среда желудка) регистрировали на компьютеризированном УФ-спектрометре Specord M-40 Carl Zeiss в кварцевых кюветках [3]. Для проведения метода диализа использовали лабораторную установку, состоящую из термостатированного стакана, установленного на магнитной мешалке Heidolph MR 3001K. В стакан помещали расчетный объем рецепторной среды, для которой поддерживалась температура $37 \pm 0,5$ °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 проводили через равные промежутки времени с восполнением рецепторной среды. В качестве полупроницаемых мембран использовали НЦМ [6], а также синтетические мембраны в виде диализных мешков Spectrapor фирмы Spectrum Medical Industry (США) и M-Cel фирмы Viscase (Франция) [10]. Для изучения процесса высвобождения компонентов экспериментальных составов были использованы следующие рецепторные среды:

- система (А), моделирующая среду кишечника (стандартный раствор тетрабората натрия формулы $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7\text{X}_{10}\text{H}_2\text{O}$ с рН = 9,18);
- система (В), моделирующая среду желудка (стандартный раствор 0,1 н соляной кислоты).

Изучение цестодоцидной активности образцов комплексных ТД антигельминтиков

Опыт проводили на 80 белых мышах, экспериментально инвазированных *Hymenolepis nana*. Мышей заражали перорально с помощью внутрижелудочного зонда в дозе 200 инвазионных яиц на животное. На 13-е сутки после заражения мышам 1, 2 и 3-й опытных групп вводили тестируемые ТД, полученные

на планетарно-центробежной мельнице в соотношении 2 : 20 : 78 при энергонапряженности 20, 40 и 60 г; 4-й группе животных вводили комплексную твердую дисперсию в соотношении 4 : 40 : 56 в дозе 20 мг/кг по НЗМ. Мышам 5 и 6-й опытных групп вводили твердые дисперсии, полученные на валковой мельнице при соотношении компонентов ФБЗ, НЗМ с ПВП соответственно 2 : 20 : 78 и 4 : 40 : 56 в аналогичной дозе. Базовый препарат – субстанцию НЗМ в дозе 20,0 мг/кг вводили в 1%-ном крахмальном геле животным 7-й опытной группы. Животные контрольной группы получали 1%-ный крахмальный гель в соответствующем объеме. На четвертые сутки после введения препаратов мышам убивали декапитацией, и проводили учет эффективности препаратов по результатам гельминтологического вскрытия кишечника. Учет эффективности препаратов проводили по типу «контрольный тест» с расчетом среднего числа обнаруженных нематод и интенсэффективности. Полученные результаты обработали статистически по методу Стьюдента-Фишера с использованием программы Microsoft Excel 2007 [1, 2].

Результаты и обсуждение

За параметр оптимизации при получении ТД экспериментальных составов в валковой мельнице LE-101 была выбрана величина растворимости ФБЗ и НЗМ. Данные по динамике растворимости ФБЗ приведены в таблице 1.

Увеличение времени механообработки приводит к улучшению растворимости ФБЗ. Однако, этот параметр имеет ограничение, и обработка в течение четырех часов не приводит к существенному увеличению его растворимости. Поэтому, это время обработки и было выбрано оптимальным для получения ТД состава № 1. Это оптимальное время было подтверждено и по анализу растворимости НЗМ при получении состава № 1 (табл. 2) – увеличение показателя до 66 раз.

Аналогично была изучена растворимость ФБЗ и НЗМ из составов № 2 и № 3. В составе № 2 отмечено увеличение растворимости ФБЗ в 38 и НЗМ в 52 раза, в составе № 3 – соответственно в 31 и 37 раз.

Растворимость компонентов (ФБЗ и НЗМ) из ТД, полученных в АГО-2, значительно уступала и составила ФБЗ в 5–12 раз, НЗМ – в 9–20 раз. Такой результат можно объяснить

Таблица 1 [Table 1]

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

[Solubility of fenbendazole (FBZ) in samples of solid dispersions (SD) of the composition FBZ : NZM : PVP (2 : 20 : 78), obtained by varying time of machining]

№	Наименование образца, условия получения [Sample name, conditions of receipt]	Растворимость ФБЗ [FBZ solubility]	
		абсолютная [absolute]	увеличение [increase]
1	ФБЗ – исходная субстанция [FBZ – original substance]	1,0	-
2	Физическая смесь состава ФБЗ:НЗМ:ПВП [Physical mixture of the composition FBZ:NZM:PVP]	1,8	2
3	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП после 2 ч м/о [SD composition FBZ:NZM:PVP after 2 hours of machining]	11,3	11
4	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП после 3 ч м/о [SD composition FBZ:NZM:PVP after 3 hours of machining]	43,2	43
5	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП после 4 ч м/о [SD composition FBZ:NZM:PVP after 4 hours of machining]	45,1	45

Таблица 2 [Table 2]

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

[Solubility of niclosamide (NZM) in samples of solid dispersions (SD) of the composition FBZ : NZM : PVP (2 : 20 : 78), obtained by varying time of machining]

№	Наименование образца, условия получения [Sample name, conditions of receipt]	Растворимость НЗМ [NZM solubility]	
		Абсолютная [absolute]	Абсолютная [absolute]
1	НЗМ – исходная субстанция [NZM - original substance]	5,0	-
2	Физическая смесь состава ФБЗ:НЗМ:ПВП [Physical mixture of the composition FBZ:NZM:PVP]	60,0	12
3	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП после 2 ч м/о [SD composition FBZ:NZM:PVP after 2 hours of machining]	130,2	26
4	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП после 3 ч м/о [SD composition FBZ:NZM:PVP after 3 hours of machining]	315,1	63
5	Физическая смесь состава ФБЗ:НЗМ:ПВП [Physical mixture of the composition FBZ:NZM:PVP]	329,5	66

образованием спекшихся агломератов в жестких условиях механообработки в АГО-2.

Из данных таблицы 3 следует, что выделение НЗМ из образцов, подвергнутых жесткой м/о (напр. 60 г) идет медленнее, чем из образцов при мягких условиях м/о (20 г).

Анализ данных таблицы 4 показывает, что высвобождение НЗМ из ТД, полученных в валковой мельнице выше, чем результаты, полученные в АГО-2. Это можно объяснить комплексообразованием, 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 НЗМ (336 нм) (рис. 1, А, Б).

Было установлено, что выделение ФБЗ через синтетическую мембрану M-Cel фирмы Viscase

в диализат, моделирующий среду кишечника (рН = 9,18), проходит (за 192 ч) в очень незначительной концентрации, находящейся за границей ошибки метода. Этого надо было ожидать в связи с относительно низкой концентрацией ФБЗ в экспериментальных составах по сравнению с НЗМ. Поэтому проводили анализ ВЭЖХ лишь одного компонента – НЗМ (табл. 3, 4).

Интересные данные были обнаружены при диализе составов № 1-3 в системе (В), а именно, из изученных ТД в диализат проходит лишь ФБЗ (рис. 2). Этот результат можно объяснить протонированием молекулы ФБЗ, являющейся слабым основанием. Молекула же НЗМ, являясь нейтральной молекулой, не проникает через изученные нами мембраны (НЦМ и M-Cell) в среду соляной кислоты, и она полностью остается внутри диализного мешка (рис. 3).

Таблица 3 [Table 3]

Данные диализа никлозамида (НЗМ) за 192 ч из образцов ТД, полученных в планетарно-центриробежной мельнице
 [Niclozamide (NZM) dialysis data for 192 h from samples of solid dispersions (SD) obtained in a planetary centrifugal mill]

№ образца [Sample number]	Образец [Sample]	% диализа НЗМ [% dialysis NZM]
№ 0	Смесь ФБЗ+ФНС [FBZ+FNS mixture]	1,0
№ 1 (образец 1-20 г) [sample 1-20 g]	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП (2:20:78) [SD composition FBZ:NZM:PVP (2:20:78)]	16,2
№ 2 (образец 2-40 г) [sample 2-40 g]	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП (3:30:67) [SD composition FBZ:NZM:PVP (3:30:67)]	6,7
№ 3 (образец 3-60 г) [sample 3-60 g]	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП (4:40:56) [SD composition FBZ:NZM:PVP (4:40:56)]	5,6

Таблица 4

Данные диализа НЗМ за 48 ч (рН = 9,18) из образцов ТД, полученных в валковой мельнице LE-101
 [48 h NZM dialysis data (pH = 9.18) from samples of solid dispersions (SD) obtained in the LE-101 roller mill]

№ образца [Sample number]	Образец [Sample]	% диализа НЗМ [% dialysis NZM]
№ 4 (Физическая смесь) [Physical mixture]	ФС состава ФБЗ:НЗМ:ПВП (2:20:78) [Physical mixture of the composition FBZ:NZM:PVP (2:20:78)]	7,9
№ 5 (ТД состава № 1) [SD composition № 1]	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП (2:20:78) [SD composition FBZ:NZM:PVP (2:20:78)]	27,3
№ 6 (ТД состава № 2) [SD composition № 2]	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП (3:30:67) [SD composition FBZ:NZM:PVP (3:30:67)]	22,2
№ 7 (ТД состава № 3) [SD composition № 3]	ТД состава ФБЗ:НЗМ:ПВП (4:40:56) [SD composition FBZ:NZM:PVP (4:40:56)]	16,7

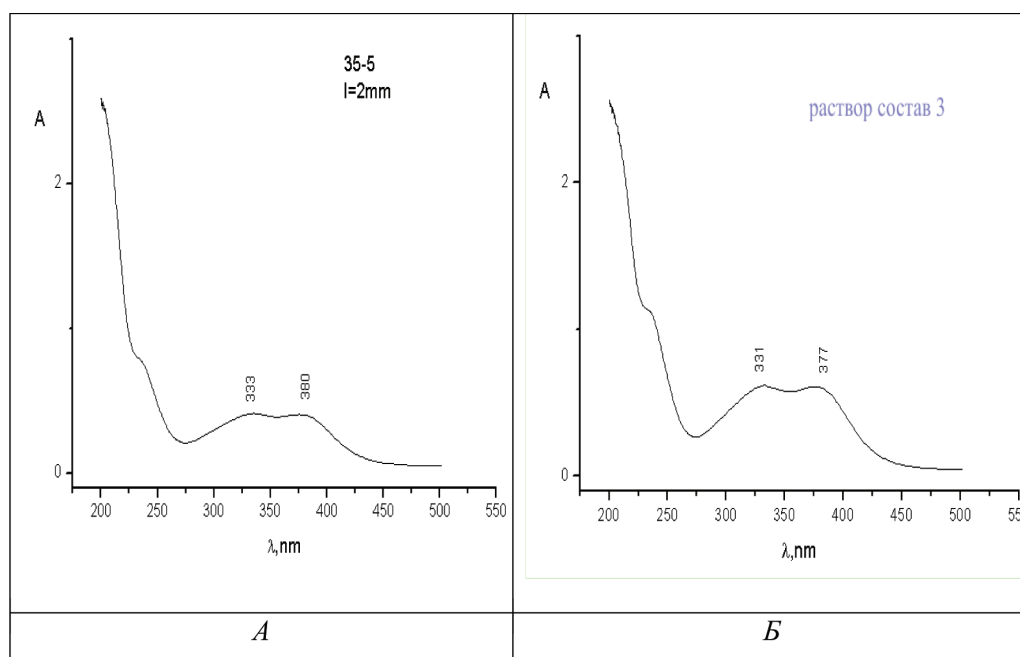


Рис. 1. УФ-спектры диализатов после диализа 48 ч ТД составов № 1 (А) и 3 (Б)
 [Fig. 1. UV spectra of dialysates after dialysis for 48 hours of SD of compositions No. 1 (A) and 3 (B)]

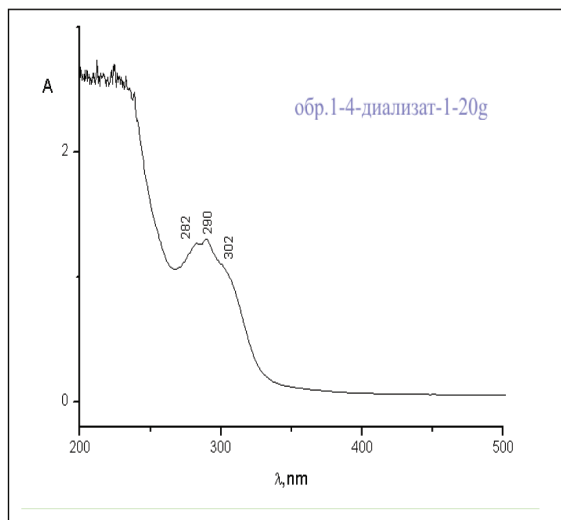


Рис. 2. УФ-спектр образца 1-20 г при диализе в 0,1 н НСl за 280 ч

[Fig. 2. UV spectrum of a sample 1-20 g when dialyzed in 0.1 N HCl for 280 hours]

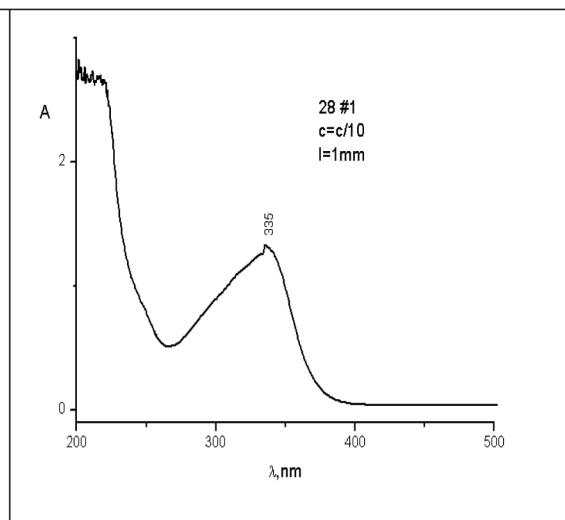


Рис. 3. УФ-спектр остатка образца 1-20 г внутри НЦМ после диализа в 0,1 н НСl

[Fig. 3. UV spectrum of sample residue 1-20 g inside NCM after dialysis in 0.1 N HCl]

Таким образом, проведенные предварительные исследования по диализу ТД, полученных в валковой мельнице LE-101 и планетарно-центробежной мельнице АГО-2, показало, что высвобождение компонентов (ФБЗ и НЗМ) в двух модельных системах происходит по различным механизмам, которые требуют дальнейших исследований.

Результаты испытания различных образцов комплексных ТД при экспериментальном гименолепидозе белых мышей приведены в таблице 5.

Полученные результаты свидетельствуют о 100%-ной эффективности ТД состава № 1 (2 : 20 : 78), полученных в мельнице АГО-2 при режиме 20 и 40 г. Состав № 3, полученный при 20 г, показал лишь 92%-ный эффект против *H. pana*. Повышение энергонапряженности состава № 1 до 60 г привело к снижению активности ТД до 89,85%, по-видимому, из-за процессов агрегации и «спекания» компонентов в жестких условиях механохимической обработки. Наиболее эффективный состав был получен при обработке в АГО-2 при режиме 20 г.

Образцы ТД составов № 1 и 3, полученных в валковой мельнице (4 ч) проявили, соответственно, 100 и 92%-ную эффективность при гименолепидозе. Следовательно, наиболее оптимальным является ТД состава № 1 – ФБЗ : НЗМ : ПВП (2 : 20 : 78).

Базовый препарат – субстанция НЗМ в дозе 20 мг/кг показала 27,69%-ную эффективность против *H. pana*.

В кишечнике животных контрольной группы обнаруживали, в среднем, по $3,25 \pm 0,33$ экз. цестод *H. pana*.

Таким образом, эффективность комплексных ТД ФБЗ, НЗМ и ПВП во многом зависит от соотношения компонентов и условий механохимической обработки: типа мельницы, времени проведения механохимической обработки, уровня энергонапряженности и др. В нашем опыте высокие показатели эффективности отмечены для ТД составов № 1, полученных в мельнице АГО-2 при режиме 20 г и на валковой мельнице LE-101. Активность базового препарата – субстанции никлозамида составила 27,69%, что в три раза ниже эффективности полученных комплексных дисперсий.

Заключение

Механохимическая модификация была применена для улучшения физико-химических свойств плохо растворимых субстанций ФБЗ и НЗМ с помощью ПВП. Методом оптимизации дозировки активных субстанций были выбраны составы № 1 (ФБЗ : НЗМ : ПВП = 2 : 20 : 78), № 2 (ФБЗ : НЗМ : ПВП = 3 : 30 : 67) и № 3 (ФБЗ :

Таблица 5 [Table 5]

Эффективность комплексных твердых дисперсий, полученных при разных условиях механохимической обработки, при экспериментальном гименолепидозе белых мышей

[Efficiency of complex solid dispersions (SD) obtained under different conditions of mechanochemical treatment in experimental hymenolepiosis of white mice]

Группа животных [Group of animals]	Состав комплекса и соотношение компонентов [Composition of the complex and ratio of components]	Содержание ДВ, % [AS content, %]	Энергонапряженность, g [Energy intensity, g]	Доза по ДВ (по ФНС), мг/кг [Dose according to AS (according to FNS), mg/kg]	Обнаружено <i>H. nana</i> , экз./гол. [<i>H. nana</i> found, sp./ind.]	ИЭ, % [Efficacy, %]
ТД, полученные в планетарно-центрифужной мельнице [SD obtained in a planetary centrifugal mill]						
Опытная [Experienced]	ФБЗ:НЗМ:ПВП (2:20:78)	ФБЗ – 2,0 НЗМ – 20,0	20	20,0	0	100
			40	20,0	0	100
			60	20,0	0,33±0,08	89,85
Опытная [Experienced]	ФБЗ:НЗМ:ПВП (4:40:56)	ФБЗ – 4,0 НЗМ – 40,0	20	20,0	0,26±0,08	92,00
ТД, полученные в валковой мельнице [SD obtained in a roller mill]						
Опытная [Experienced]	ФБЗ:НЗМ:ПВП (2:20:78)	ФБЗ – 2,0 НЗМ – 20,0	20	20,0	0	100
Опытная [Experienced]	ФБЗ:НЗМ:ПВП (4:40:56)	ФБЗ – 4,0 НЗМ – 40,0	20	20,0	0,26±0,08	92,00
Опытная [Experienced]	НЗМ субстанция [NZM substance]	98,0	–	20,0	2,35±0,17	27,69
Контрольная [Control]	–	–	–	–	3,25±0,33	–

НЗМ : ПВП = 4 : 40 : 56), которые были получены на двух типах мельниц – валковой мельнице LE-101 с энергонапряженностью 1 g и планетарно-центрической мельнице АГО-2 с тремя режимами активации – 20, 40 и 60 g.

Показатели растворимости и высвобождения ФБЗ и НЗМ из ТД зависели как от способа их получения, так и соотношения компонентов. Показано, что высвобождение компонентов (ФБЗ и НЗМ) в двух модельных системах (среда желудка и среда кишечника) происходит по различным механизмам, которые требуют дальнейших исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Архипов И. А., Варламова А. И., Одоевская И. М. Методические рекомендации по испытанию и оценке эффективности препаратов при трихинеллезе и гименолепидозе на лабораторной модели // Российский паразитологический журнал. 2019. Т. 13, № 2. С. 58-63. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2019-13-2-58-63>
2. Астафьев Б. А., Яроцкий Л. С., Лебедева М. Н. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине. М.: Наука, 1989. 279 с.
3. Косицына А. С., Фроленко Т. А. Применение методов оптической спектроскопии при изучении органических соединений: учеб. пособие. Красноярск: СибГУ, 2018. 86 с.
4. Тихонов А. И., Ярных Т. Г., Зупанец И. А., Данилькевич О. С., Богуцкая Е. Е., Бездетно Н. В., Азаренко Ю. Н. Биофармация: учеб. Харьков: Изд-во НФаУ, Золотые страницы, 2003. 240 с.
5. 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. <https://doi.org/10.17513/mjpf.13512>
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; 38: 326–330. <https://doi.org/10.1557/mrs.2013.60>
7. 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 Efficiency. Powders 2023; 2: 727–736. <https://doi.org/10.3390/powders2040045>
8. Olejnik A., Goscianska J., Nowak I. Active compounds release from semisolid dosage forms. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2012; 101 (11): 4032–4045. <https://doi.org/10.1002/jps.23289>
9. 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; 20 (3): 330–336. <https://doi.org/10.3109/10837450.2013.867446>
10. Squires T. M., Messinger R. J., Manalis S. R. Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors. Nat. Biotechnol. 2008; 26: 417–426. <https://doi.org/10.1038/nbt1388>

Статья поступила в редакцию 05.01.2024; принята к публикации 12.02.2024

Об авторах:

Халиков Салават Самадович, Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН (119991, Москва, ул. Вавилова, 28), Москва, Россия, доктор технических наук, ORCID ID: 0000-0002-4736-5934, salavatkhalikov@mail.ru

Халиков Марат Салаватович, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН (119991, Москва, ул. Вавилова, 28), Москва, Россия, ORCID ID: 0000-0002-1768-5048, marat.xalikov.88@bk.ru

Кононова Елена Германовна, Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН (119991, Москва, ул. Вавилова, 28), Москва, Россия, кандидат химических наук, ORCID ID: 0000-0002-9602-0158, lena.kononova@gmail.com

Ильин Михаил Михайлович, Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН (119991, Москва, ул. Вавилова, 28), Москва, Россия, кандидат химических наук, ORCID ID: 0000-0002-1768-5048, kotosok1978@yahoo.com

Архипов Иван Алексеевич, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, профессор, ORCID ID: 0000-0001-5165-0706, arkhipovhelm@mail.ru

Варламова Анастасия Ивановна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, ORCID ID: 0000-0001-8364-5055, arsphoeb@mail.ru

Вклад соавторов:

Халиков Салават Самадович – научное руководство, анализ полученных результатов, составление рукописи.

Халиков Марат Салаватович – наработка опытных образцов, инструментальные исследования, анализ данных, оформление рукописи.

Кононова Елена Германовна – инструментальные исследования, анализ данных, формирование выводов.

Ильин Михаил Михайлович – инструментальные исследования, анализ данных, формирование выводов.

Иван Алексеевич Архипов – научное руководство, биологические исследования, критический анализ полученных результатов.

Варламова Анастасия Ивановна – биологические исследования, анализ данных, оформление рукописи.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Arkhipov I. A., Varlamova A. I., Odoevskaya I. M. Methodological Recommendations for Testing and Assessment of Efficiency of Medications against Trichinellosis and Hymenolepidosis in Laboratory Model. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2019; 13 (2): 58–63. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2019-13-2-58-63>
2. Astafiev B. A., Yarotsky L. S., Lebedeva M. N. Experimental models of parasite infections in biology and medicine. M.: Nauka, 1989; 279. (In Russ.)
3. Kositsyna A. S., Frolenko T. A. Application of optical spectroscopy methods in the study of organic compounds. Krasnoyarsk: Siberian State University, 2018; 86. (In Russ.)
4. Tikhonov A. I., Yarnykh T. G., Zupanets I. A., Dankevich O. S., Bogutskaya E. E., Bezdetno N. V., Azarenko Yu. N. Biopharmacy. Kharkov: Publishing House of the National University of Pharmacy, Zoloty Stranitsy, 2003; 240.
5. Khalikov S. S., Evseenko V. I., Varlamova A. I., Khalikov M. S., Ilyin M. M., Meteleva E. S., Arkhipov I. A. Obtaining complex anthelmintic drugs using mechanochemistry methods. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2023; 2: 44–52. <https://doi.org/10.17513/mjpf.13512>
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; 38: 326–330. <https://doi.org/10.1557/mrs.2013.60>
7. 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 Efficiency. *Powders* 2023; 2: 727–736. <https://doi.org/10.3390/powders2040045>
8. Olejnik A., Goscianska J., Nowak I. Active compounds release from semisolid dosage forms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012; 101 (11): 4032–4045. <https://doi.org/10.1002/jps.23289>
9. 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; 20 (3): 330–336. <https://doi.org/10.3109/10837450.2013.867446>
10. Squires T. M., Messinger R. J., Manalis S. R. Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors. *Nat. Biotechnol.* 2008; 26: 417–426. <https://doi.org/10.1038/nbt1388>

The article was submitted 05.01.2024; accepted for publication 12.02.2024

About the authors:

Khalikov Salavat S., Nesmeyanov Institute of Organoelement compounds (28 Vavilova Str., Moscow, 119991), Moscow, Russia, Doctor of Engineering Sciences, ORCID ID: 0000-0002-4736-5934, salavatkhalikov@mail.ru

Khalikov Marat S., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya str., Moscow, 117218, Russia), Nesmeyanov Institute of Organoelement compounds (28 Vavilova Str., Moscow, 119991), Moscow, Russia, ORCID ID: 0000-0002-1768-5048, marat.xalikov.88@bk.ru

Kononova Elena G., Nesmeyanov Institute of Organoelement compounds (28 Vavilova Str., Moscow, 119991), Moscow, Russia, Candidate of Chemical Sciences, ORCID ID: 0000-0002-9602-0158, lena.kononova@gmail.com

Ilyin Mikhail M., Nesmeyanov Institute of Organoelement compounds (28 Vavilova Str., Moscow, 119991), Moscow, Russia, Candidate of Chemical Sciences, ORCID ID: 0000-0002-1768-5048, kotosok1978@yahoo.com

Arkhipov Ivan A., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya str., Moscow, 117218, Russia), Moscow, Russia, Doctor of Veterinary Sciences, professor, ORCID ID: 0000-0001-5165-0706, arkipovhelm@mail.ru

Varlamova Anastasia I., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya str., Moscow, 117218, Russia), Moscow, Russia, Doctor of Veterinary Sciences, ORCID ID: 0000-0001-8364-5055, arsphoeb@mail.ru

Contribution of co-authors:

Khalikov Salavat S. – academic supervision, analysis of obtained results, manuscript drafting.

Khalikov Marat S. – preliminary studies of prototypes, instrumental research, data analysis, manuscript preparation.

Kononova Elena G. – instrumental research, data analysis, conclusions.

Ilyin Mikhail M. – instrumental research, data analysis, conclusions.

Arkhipov Ivan A. – academic supervision, biological research, critical analysis of obtained results.

Varlamova Anastasia I. – biological research, data analysis, manuscript preparation.

The authors read and approved the final manuscript version.