

# ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИИ β-ЦИКЛОДЕКСТРИНА НА ПОВЕРХНОСТИ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА НА ЕГО СПОСОБНОСТЬ К ОБРАЗОВАНИЮ КОМПЛЕКСОВ С МЕТРОНИДАЗОЛОМ

А.Л. Габчак, Н.В. Гузенко, Е.Ф. Воронин

*Институт химии поверхности Национальной академии наук Украины  
ул. Ген. Наумова, 17, 03164, Киев-164*

*В работе исследован процесс комплексообразования метронидазола с β-циклодекстрином в водных растворах и на поверхности высокодисперсного кремнезема. Методом УФ-спектроскопии показано, что образование комплексов происходит в растворах с мольным соотношением метронидазол:циклодекстрин 1:100 и 1:500. Предложен метод адсорбционного модифицирования высокодисперсного кремнезема β-циклодекстрином. Методом ИК-спектроскопии установлено, что при нанесении циклодекстрина методом импрегнации адсорбированные молекулы образуют на поверхности кремнезема кластеры, тогда как модифицирование в условиях псевдооживления в реакторе интенсивного перемешивания позволяет получить более равномерное покрытие поверхности, что необходимо для дальнейшего формирования комплексов с метронидазолом. Образование на поверхности кремнезема комплексов включения при поэтапном модифицировании β-циклодекстрином и метронидазолом обнаружено методами УФ-спектроскопии и дифференциального термического анализа.*

*The paper is devoted to the study of metronidazole and β-cyclodextrin complexation process in water solutions and on high disperse silica surface. Using UV-spectroscopy method it was shown that complex formation took place in solutions with molar ratio metronidazole : cyclodextrin of 1:100 and 1:500. A method of adsorption modification of fumed silica with β-cyclodextrin was proposed. By the means of IR-spectroscopy it was found that β-cyclodextrin molecules adsorbed by the impregnation method formed clusters on silica surface while the modification under pseudo-liquid conditions in the intensive mixing reactor allowed getting more regular surface coverage, what was necessary for further complexation with metronidazole. The formation of inclusion complexes on silica surface due to step-by-step modification with β-cyclodextrin and metronidazole was revealed using UV-spectroscopy and differential thermal analysis.*

## **Введение**

Сочетание и усиление терапевтической эффективности эфферентных и медикаментозных технологий в единой лекарственной форме является перспективным направлением современной фармакологии. Успешное внедрение в клиническую практику высокодисперсного кремнезема, совершенное под руководством академика НАН Украины А.А. Чуйко, стало импульсом к разработке комплексных препаратов на его основе [1]. Именно А.А. Чуйко инициировал и способствовал дальнейшим исследованиям, направленным на расширение областей применения этого уникального

препарата, использование его в качестве матрицы и активного носителя фармацевтических препаратов. Актуальным является применение с этой целью различных антимикробных субстанций, что обусловлено выраженным синергизмом действия ингредиентов такой композиции [2].

Целью работы является разработка научных основ создания комплексного препарата антибактериального и сорбционно-детоксикационного действия на основе высокодисперсного кремнезема. В качестве химиотерапевтического компонента был выбран метронидазол, обладающий высокой активностью по отношению к анаэробной микрофлоре и протозойным паразитическим инфекциям [3]. Его ограниченная растворимость в воде и необходимость 3-4-кратного введения в течение суток способствовало созданию иммобилизованных форм метронидазола. Иммобилизация метронидазола на поверхности высокодисперсного кремнезема является средством регулирования его фармакокинетики, повышения биодоступности, снижения токсичности и усиления терапевтической активности. Однако диспергирование биологически активных соединений, сопровождающее их иммобилизацию, может иметь ряд недостатков, в частности, распределение метронидазола по поверхности усиливает его фотохимическую деградацию.

Создание супрамолекулярных комплексов биологически активных соединений с циклодекстринами (ЦД) на поверхности высокодисперсного кремнезема позволяет повысить устойчивость инкапсулированного вещества к воздействию света, температуры, окисления, а также регулировать его растворимость, биодоступность и маскировать нежелательные физиологические эффекты [4-13].

Иммобилизация комплексов циклодекстрин-лекарственное вещество на поверхности кремнезема может осуществляться несколькими способами. Так, предварительно созданный комплекс включения может наноситься методами адсорбции или импрегнации [14-16]. Как показано в литературе [17-18], инклюзионные комплексы часто характеризуются небольшой прочностью, поэтому в растворе равновесие смещено в сторону индивидуальных веществ. Таким образом, в данных условиях желаемый результат не достигается: циклодекстрин и биологически активное вещество иммобилизуются в виде отдельных фаз.

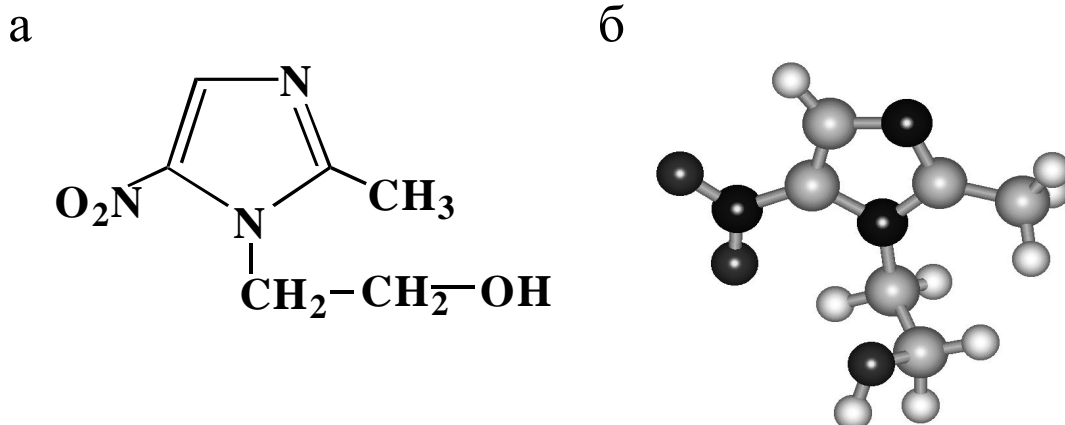
Метод модифицирования высокодисперсного кремнезема в реакторе интенсивного перемешивания в условиях отсутствия жидкой фазы дает возможность создания иммобилизованного супрамолекулярного комплекса путем поэтапного нанесения циклодекстрина и лекарственного вещества. К преимуществам данного метода относят также его технологичность и сохранение исходной дисперсности аэросила [19]. Инкапсулирование метронидазола в полости циклодекстрина в этих условиях исследовалось методами ИК-, УФ-спектроскопии и термогравиметрии.

## Материалы и методы

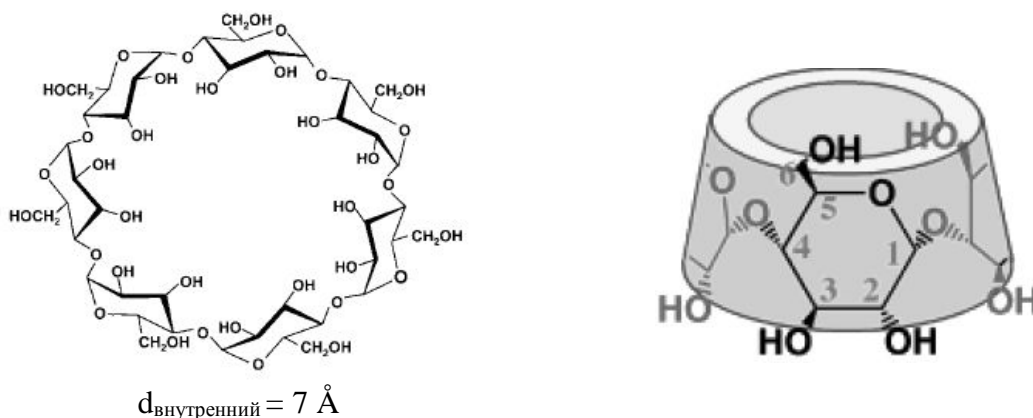
В качестве адсорбента в работе использован высокодисперсный кремнезем с величиной удельной поверхности  $230 \text{ м}^2/\text{г}$  и концентрацией свободных силанольных групп  $0,60\text{-}0,62 \text{ ммоль}/\text{г}$ . Метронидазол, или 1-( $\beta$ -оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазол (рис. 1), по показателям чистоты отвечал требованиям Британской фармакопеи BP2000.

Среди циклодекстринов был выбран  $\beta$ -циклодекстрин «Wacker» (рис. 2), который рассматривают в качестве наиболее перспективного носителя лекарственных средств. Его молекула состоит из 7 глюкопиранозных звеньев, молекулярная масса 1135, внутренний диаметр кольца  $0,7\text{-}0,8 \text{ нм}$ , что соответствует размерам молекулы метронидазола. Все первичные гидроксильные группы молекулы ЦД обращены наружу, вторичные – вовнутрь его полости, состоящей из метиленовых и метиновых групп, а также атомов кислорода. Внешняя поверхность молекулы  $\beta$ -циклодекстрина гидрофильна, внутренняя

– гидрофобна. Следствием такой конфигурации является способность ЦД формировать комплексы включения с молекулами, менее полярными, чем вода [4-13].



**Рис. 1.** Структурная формула (а) и пространственное строение (б) молекулы 1-(β-оксиэтил)-3-метил-5-нитроимидазола.



**Рис. 2.** Структурная формула молекулы β-циклодекстрина.

Измерение оптической плотности в УФ-области проводили на спектрофотометрах Specord M 40, Carl Zeiss и Lambda 35, Perkin Elmer, ИК-спектроскопические исследования проводили с помощью спектрофотометра FTIR ThermoNicolet. Термическую устойчивость синтезированных образцов изучали на дериватографе MOM Q-1500 в температурном интервале 20-1000°C.

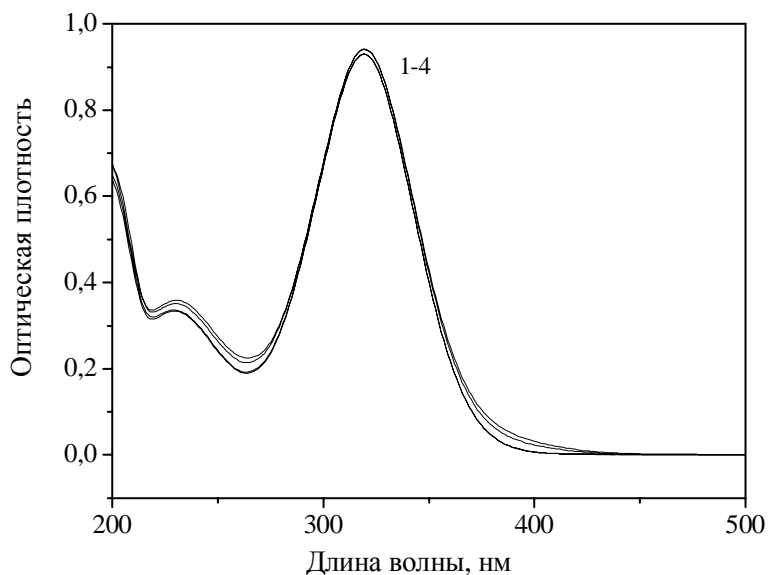
### Экспериментальная часть

Возможность образования супрамолекулярных комплексов по типу хозяин-гость исследовали в водных растворах β-циклодекстрина и метронидазола методом УФ-спектроскопии. Спектры  $1 \cdot 10^{-4}$  М водного раствора метронидазола приведены на рис. 3.

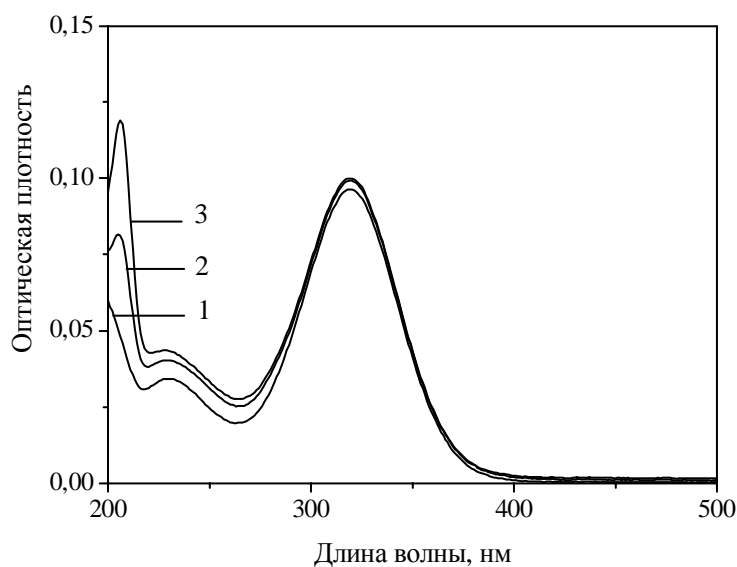
Исходными растворами для исследования были  $1 \cdot 10^{-3}$  М раствор метронидазола и  $1 \cdot 10^{-3}$  М раствор β-циклодекстрина. В мерную колбу емкостью 100 мл помещали по 1 мл раствора метронидазола и прибавляли к нему такое количество раствора β-циклодекстрина, чтобы молярное соотношение метронидазол : ЦД находилось в диапазоне от 1:1 до 1:500. Смесь доводили водой до метки, тщательно перемешивали и выдерживали 24 часа. Спектры поглощения регистрировали в области 200-500 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве растворов сравнения использовали растворы ЦД соответ-

ствующих концентраций. Изменения в интенсивности полос поглощения и локализации их максимумов не были зафиксированы, что может свидетельствовать о том, что в данных условиях образование комплекса не происходит.

После выдерживания растворов этой серии в течение часа при 40, 60 и 80°C в герметично закрытых баночках был зафиксирован bathochromный сдвиг полосы поглощения с максимумом около 200 нм, который при повышении температуры сопровождался гиперхромным эффектом. Указанные изменения наблюдали для растворов с мольным соотношением метронидазол : циклодекстрин 1:100 и 1:500 (рис. 4, 5).

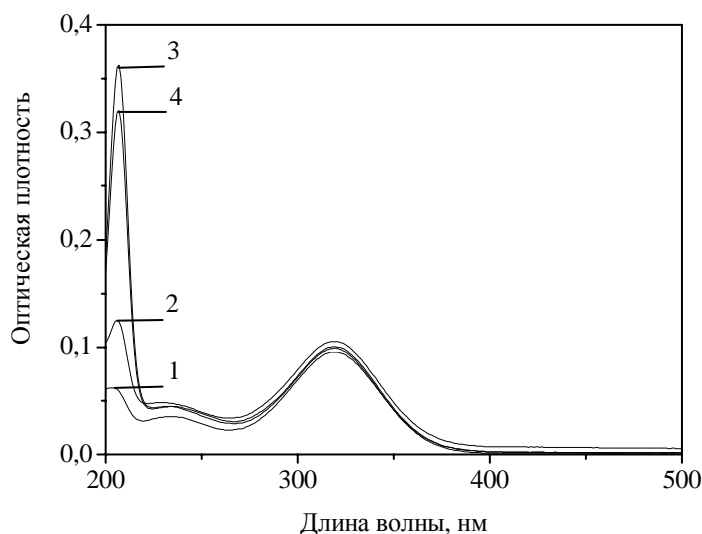


**Рис. 3.** УФ-спектры  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л растворов метронидазола при 17 °C (1) и после прогрева при 40 (2), 60 (3) и 80 °C (4).



**Рис. 4.** УФ-спектры в водных растворах  $\beta$ -циклодекстрина с мольным соотношением метронидазол-циклодекстрин 1:100 при 17°C (1) и после прогрева при 60 (2) и 80°C (3). Концентрация метронидазола –  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

При нагревании раствора метронидазола в аналогичных условиях изменений в его спектрах не наблюдалось (рис. 3). Можно предположить, что спектральные изменения, имеющие место при высоком содержании циклодекстрина в растворах, обусловлены именно его влиянием.



**Рис. 5.** УФ-спектры метронидазола в водных растворах  $\beta$ -циклодекстрина с мольным соотношением метронидазол : циклодекстрин 1:500 при 17°C (1) и после прогрева при 40 (2), 60 (3) та 80°C (4). Концентрация метронидазола –  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

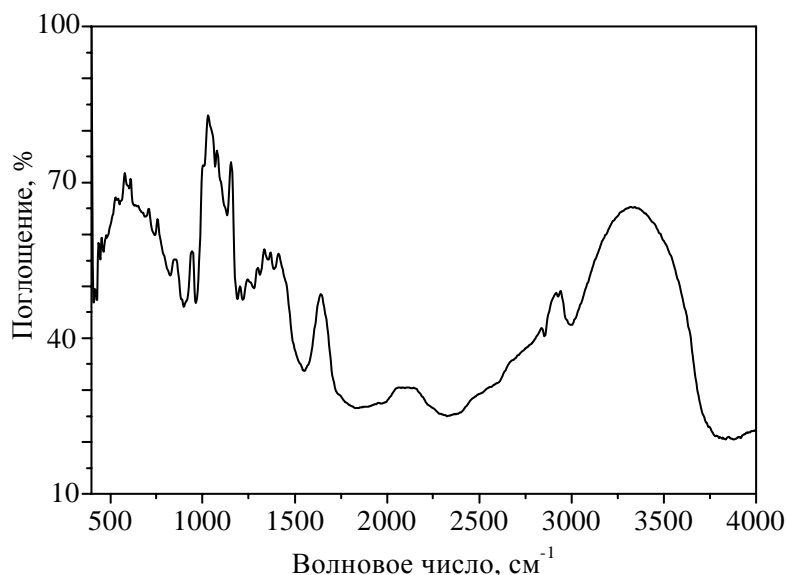
Модифицирование методом импрегнации проводили из водных растворов. Для этого были приготовлены 5 %-ные суспензии высокодисперсного кремнезема с содержанием  $\beta$ -циклодекстрина от 0 до 0,6 ммоль/г. Образцы высушивали на воздухе при комнатной температуре и прогревали в течение 2 часов при 80°C.

Из приведенных ИК-спектров видно, что даже при содержании  $\beta$ -циклодекстрина в количестве 0,6 ммоль/г, что соответствует количеству поверхностных активных центров, большая часть силанольных групп остается невозмущенными (рис. 7, 8). Это означает, что на определенных участках поверхности происходит образование полислоев адсорбированных молекул еще до окончания формирования сплошного монослоя, то есть образование кластеров. Для молекул  $\beta$ -циклодекстрина гидратация (в присутствии растворителя) или образование кластеров (при его отсутствии) являются более выгодными, чем взаимодействие с активными центрами поверхности кремнезема. Таким образом, в данных условиях не удастся получить равномерное покрытие поверхности  $\beta$ -циклодекстрином, что необходимо для дальнейшего формирования комплексов с метронидазолом. Полученные результаты согласуются с имеющимися в литературе данными о низкой адсорбции моно- и олигосахаридов на кремнеземе [14-16, 19].

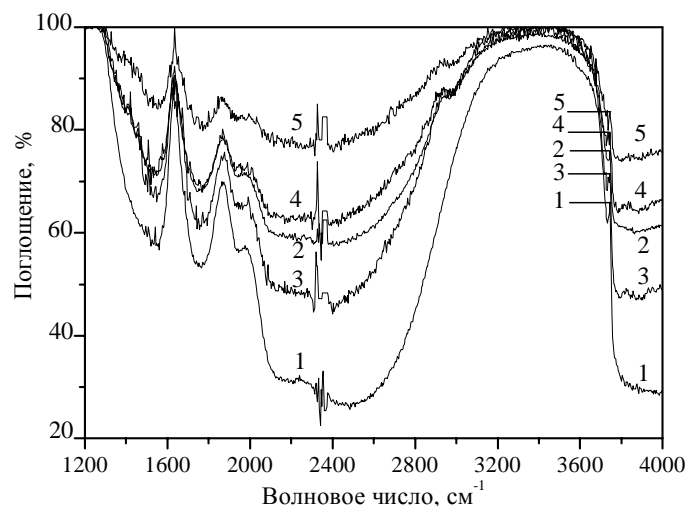
Показано [19], что после адсорбционного модифицирования высокодисперсного кремнезема моно- и олигосахаридами в газовой дисперсионной среде, степень покрытия поверхности значительно выше, чем в случае жидкофазного модифицирования. Поэтому для иммобилизации  $\beta$ -циклодекстрина был применен способ адсорбционного модифицирования аэросила с использованием реактора интенсивного перемешивания (РИП).

Модифицирование проводили следующим образом. В реактор емкостью 1 л последовательно загружали 25 г аэросила А-300 и навеску  $\beta$ -циклодекстрина (2,9 г) и перемешивали их мешалкой. Суммарная площадь проекции такого количества ЦД (0,15 ммоль/г), учитывая его посадочную площадку [15], составляет  $254 \text{ м}^2$ , что доста-

точно для полного покрытия поверхности используемого кремнезема при плотной упаковке молекул модификатора. При достижении 300-500 об/мин смесь переходила в псевдоожидженное состояние. Далее при комнатной температуре в реактор постепенно добавляли воду со скоростью 1-2 капли в секунду. Количество жидкости составляло приблизительно 50% мас. от содержания кремнезема, который при этом оставался сыпучим. После 6 часов к смеси добавляли метронидазол в количестве 0,15 ммоль/г и перемешивали еще 3 часа. Полученные образцы прогревали в сушильном шкафу при 80 °С на протяжении 2 часов для удаления сорбированных молекул воды.



**Рис. 6.** ИК-спектр  $\beta$ -циклодекстрина в KBr (1:100).

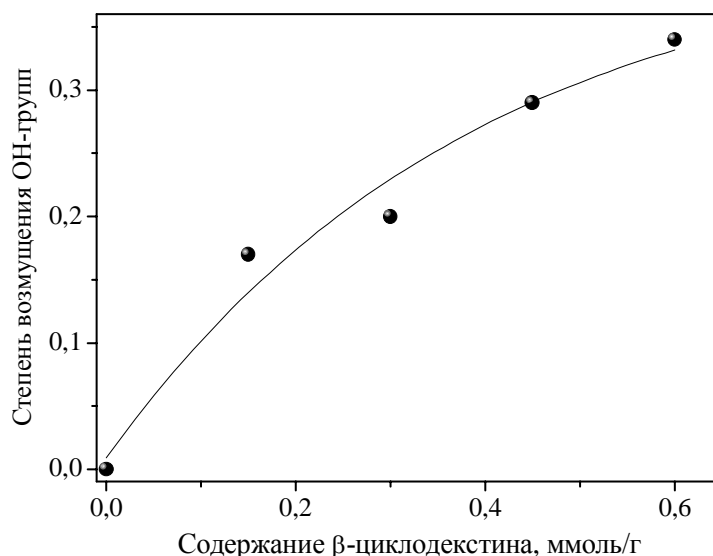


**Рис. 7.** ИК-спектры исходного кремнезема (1) и после модифицирования  $\beta$ -циклодекстрином в количестве 0,15 (2), 0,3 (3), 0,45 (4) и 0,6 ммоль/г (5) методом импрегнации.

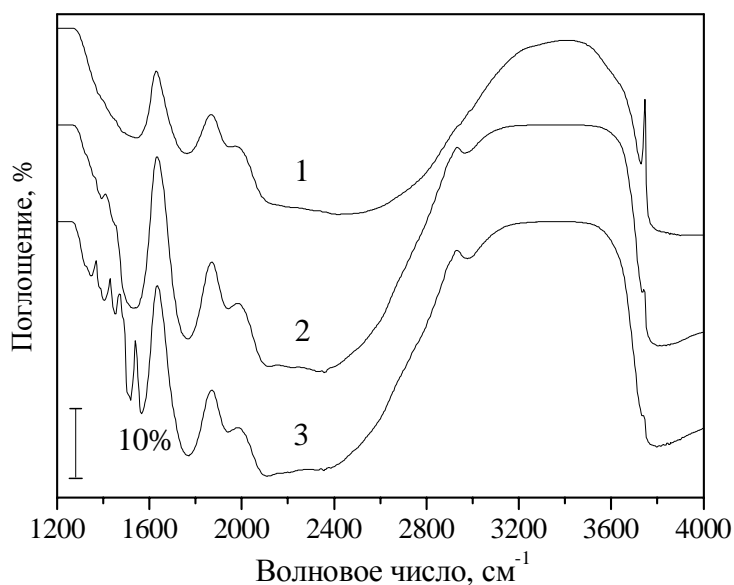
ИК-спектры кремнезема, модифицированного  $\beta$ -циклодекстрином, и после поэтапного модифицирования  $\beta$ -циклодекстрином та метронидазолом, приведены на рис. 9.

В аналогичных условиях провели модифицирование высокодисперсного кремнезема метронидазолом в количестве 0,15 ммоль/г (25 % от количества свободных силанольных групп). В ИК-спектрах (рис. 10) при этом наблюдается появление характе-

ристических полос поглощения метронидазола в области  $1300-1600\text{ см}^{-1}$  и снижение интенсивности полосы  $3750\text{ см}^{-1}$  на 29 %, что свидетельствует о том, что метронидазол взаимодействует с поверхностными адсорбционными центрами в соотношении 1:1.



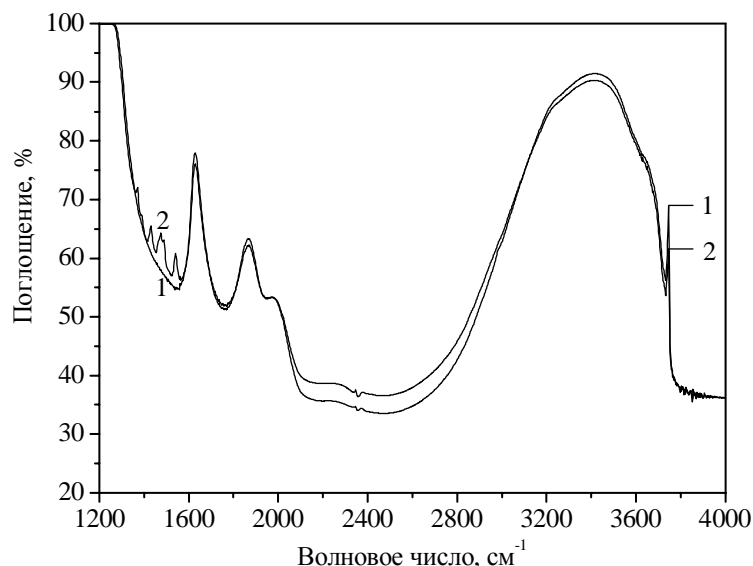
**Рис. 8.** Зависимость степени возмущения свободных силанольных групп кремнезема от содержания  $\beta$ -циклодекстрина после модифицирования методом импрегнации.



**Рис. 9.** ИК-спектры кремнезема после обработки в РИП в насыщенных парах воды: исходного (1), модифицированного  $\beta$ -циклодекстрином в количестве 0,15 ммоль/г (2), и после поэтапного модифицирования  $\beta$ -циклодекстрином (0,15 ммоль/г) и метронидазолом (0,15 ммоль/г) (3).

Показано, что перемешивание кремнезема с  $\beta$ -циклодекстрином при комнатной температуре не приводит к распределению молекул по поверхности – в ИК-спектре образца отсутствуют колебания С-Н-связей и полоса колебания свободных силанольных групп практически не изменяется. Обработка парами воды и повышение температуры в реакторе стимулирует распределение молекул  $\beta$ -циклодекстрина по поверхности крем-

незема – появляются полосы С-Н-колебаний в области 2850-3000 см<sup>-1</sup> (рис. 9). При этом интенсивность полосы поглощения свободных силанольных групп уменьшается на 61 % по отношению к исходному аэросилу, обработанному в насыщенных парах воды аналогичным образом. Разработанный подход без использования жидкой фазы позволяет получить более равномерное покрытие поверхности кремнезема β-циклодекстрином, чем при модифицировании из раствора.



**Рис. 10.** ИК-спектры кремнезема после обработки в РИП в насыщенных парах воды: исходного (1) и модифицированного метронидазолом в количестве 0,15 ммоль/г (2).

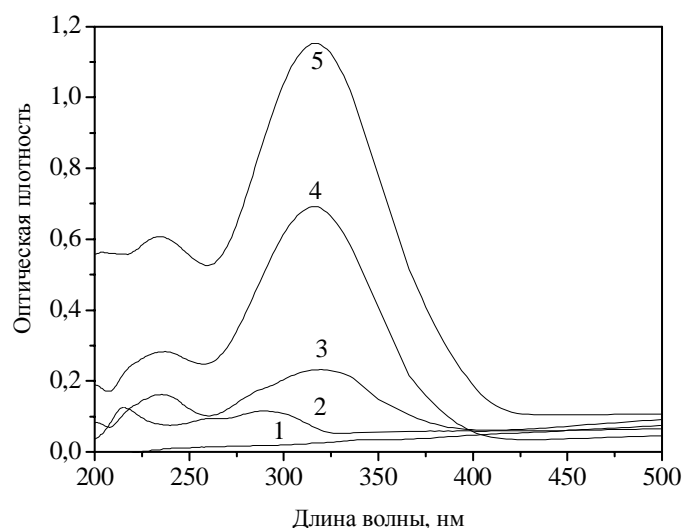
Учитывая полученное ранее соотношение (1:1), которое в условиях модифицирования устанавливается между молекулами метронидазола и поверхностными адсорбционными центрами, можно ожидать, что при введении в реакцию смесь 0,15 ммоль/г метронидазола степень возмущения свободных силанольных групп увеличится на 25–30 %. Однако данный показатель возрос только на 21 %. Следовательно, можно предположить, что оставшееся количество внесенного метронидазола (примерно четвертая часть) взаимодействует с молекулами β-циклодекстрина, распределенного по поверхности кремнезема.

Для установления характера этого взаимодействия проведено УФ-спектральное исследование синтезированных образцов (рис. 11). Заметное увеличение интенсивности полосы поглощения метронидазола в спектрах 3, 4 и 5 при одинаковом содержании азота в каждом образце можно объяснить увеличением равномерности покрытия поверхности в процессе модифицирования, что значительно влияет на вид спектров диффузного отражения. После проведения процедуры отнимания спектров β-циклодекстрина и метронидазола, распределенных по поверхности кремнезема, от спектра образца, полученного путем поэтапного нанесения обоих веществ, получен спектр (рис. 12), смещенный батохромно приблизительно на 8 нм относительно спектра метронидазола на поверхности. Учитывая, что аналогичное смещение наблюдалось в водных растворах метронидазола и β-циклодекстрина, можно предположить, что спектр 2 соответствует метронидазолу, инкапсулированному в полости ЦД.

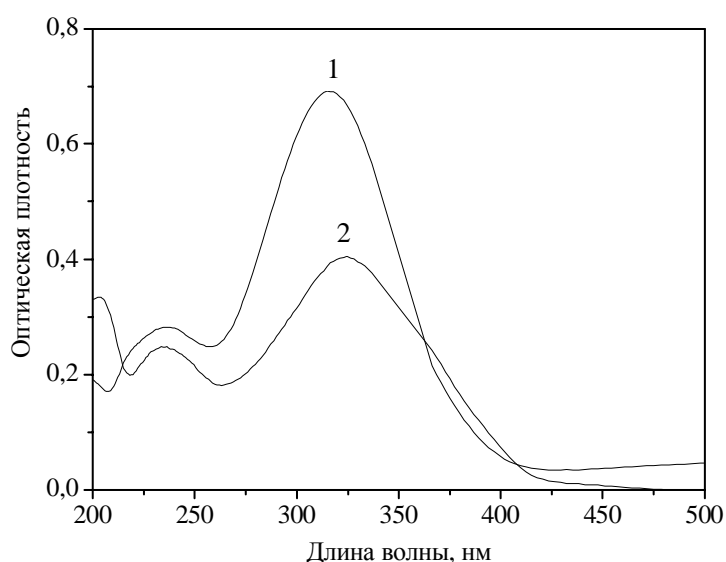
Об образовании комплексов включения метронидазола с β-циклодекстрином на поверхности высокодисперсного кремнезема также свидетельствуют данные, полученные методом термогравиметрии (рис. 13). Характер дериватограмм для иммобилизи-



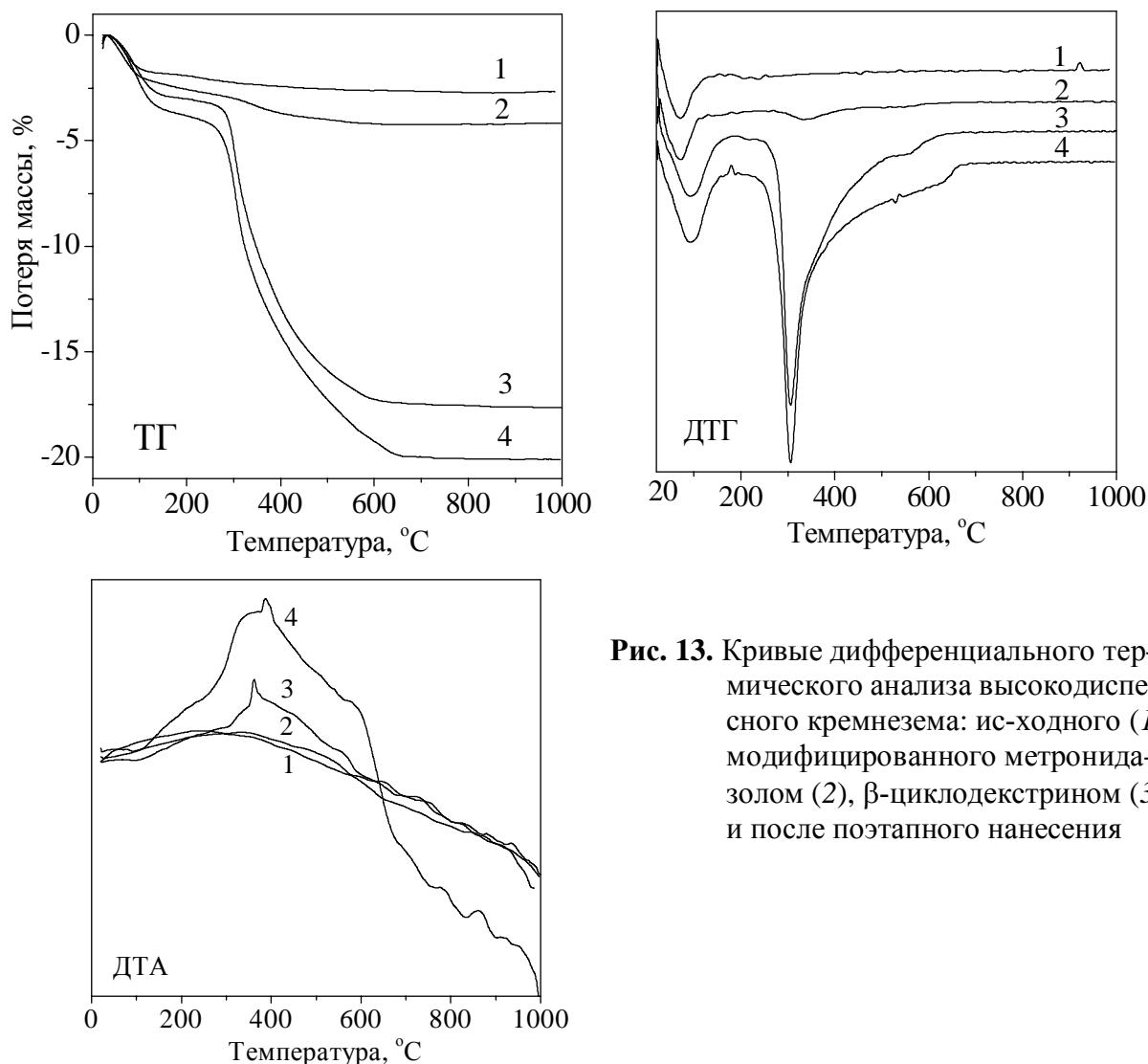
рованного на поверхности комплекса отличается от кривых разложения индивидуальных веществ, нанесенных на поверхность, или их механических смесей с сорбентом. Проведенные исследования показывают, что термостабильность метронидазола, включенного в полость циклодекстрина, увеличивается. При этом потеря массы образца, содержащего комплекс, наблюдается до 660°C, в то время как полное термическое разложение иммобилизованного циклодекстрина заканчивается уже при 620°C. Это согласуется с приведенными в литературе данными о том, что термическая деструкция включенного в клатрат вещества происходит преимущественно после термической деструкции молекулы хозяина [20-22].



**Рис. 11.** УФ-спектры диффузного отражения исходного кремнезема (1), кремнезема, модифицированного  $\beta$ -циклодекстрином (2), механической смеси кремнезема и метронидазола (3), кремнезема, модифицированного метронидазолом, (4) и кремнезема, модифицированного  $\beta$ -циклодекстрином и метронидазолом (5). Содержание модификаторов во всех случаях составляет 0,15 ммоль/г.



**Рис. 12.** УФ-спектр диффузного отражения кремнезема, модифицированного метронидазолом, (1) и спектр, полученный вычитанием спектров  $\beta$ -циклодекстрина и метронидазола, распределенных по поверхности кремнезема, от спектра образца, полученного путем поэтапного нанесения обоих веществ (2).



**Рис. 13.** Кривые дифференциального термического анализа высокодисперсного кремнезема: исходного (1), модифицированного метронидазолом (2),  $\beta$ -циклодекстрином (3) и после поэтапного нанесения

## Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о том, что модифицирование высокодисперсного кремнезема  $\beta$ -циклодекстрином в газовой дисперсионной среде в условиях псевдооживления позволяет получить более равномерное покрытие поверхности, чем модифицирование методом импрегнации. Методами УФ-спектроскопии и термогравиметрии показано, что в результате поэтапного нанесения  $\beta$ -циклодекстрина и метронидазола в таких условиях на поверхности кремнезема могут образовываться комплексы, аналогичные по структуре комплексам включения в водном растворе.

## Литература

1. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. акад. НАН Украины А.А. Чуйко. – К.: Наук. думка, 2003. – 416 с.
2. Безуглая Е.П., Белов С.Г., Гунько В.Г. и др. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Под ред. Даценко Б.М. – К.: Здоровье, 1995. – 384 с.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - В 2-х томах. – Харьков: Торсинг, 1997. – Т.2.– 592 с.
4. Andersen F.M., Bundgaard H. Inclusion complexation of metronidazole benzoate with  $\beta$ -cyclodextrin and its depression of anhydrate-hydrate transition in aqueous suspensions // Int. J. Pharmaceutics. - 1984. - V. 19, N 2. - P.189-197.

5. Szejtli J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry // Chem. Rev. – 1998. – V. 98. – P.1743-1753.
6. Uekama K., Hirayama F., and Irie T. Cyclodextrin Drug Carrier Systems // Chem. Rev. – 1998. – V. 98, N 5. – P.2045-2076.
7. Hedges A.R. Industrial Applications of Cyclodextrins // Chem. Rev. – 1998. – V. 98. – P.2035-2044.
8. Штейнман А.А. Циклодекстрины // Рос. хим. журнал. – 1985. – № 5. – С.514-518.
9. Чайка Л.А., Хаджай Я.И., Либина В.В. Фармакотоксикологические аспекты применения циклодекстринов в качестве носителей лекарственных средств (обзор) // Химико-фарм. журнал. – 1990. – № 7. – С.19-23.
10. Беликов В.Г., Компанцева Е.В. Соединения включения, перспективы применения в фармации // Фармация. – 1983. – № 3. – С.54-58.
11. Беликов В.Г., Компанцева Е.В., Ботезат-Белый Ю.К. Циклодекстрины и их соединения включения с лекарственными веществами (обзор) // Химико-фарм. журнал. – 1986. – № 5. – С.525-532.
12. Астахова А.В., Демина Н.Б. Современные технологии лекарственных форм: получение, исследование и применение комплексов включения лекарственных веществ с циклодекстринами (обзор) // Химико-фарм. журнал. – 2004. – Т. 38, № 2. – С.46-49.
13. Компанцева Е.В., Гаврилин М.В., Ушакова Л.С. Производные  $\beta$ -циклодекстрина и перспективы их использования в фармации (обзор) // Химико-фарм. журнал. – 1996. – № 4. – С.43-46.
14. Belyakov V.N., Belyakova L.A., Varvarin A.M., Khora O.V., Vasilyuk S.L., Kazdobin K.A., Maltseva T.V., Kotvitsky A.G. and Danil de Namor A.F. Supramolecular structures on silica surfaces and their adsorptive properties // J. Colloid Interface Sci. – 2005. – V. 285, N 1. – P.18-26.
15. Белякова Л.А., Варварин А.М., Хора А.В. Адсорбционное модифицирование кремнеземов  $\beta$ -циклодекстрином // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнології. – 2003. – Т. 1, № 2. – С.691-699.
16. Белякова Л.А., Варварин А.М., Хора А.В. Адсорбционная и химическая иммобилизация  $\beta$ -циклодекстрина на поверхности дисперсных кремнеземов // Укр. хим. журнал. – 2006. – Т. 72, № 3. – С.30-36.
17. Гаврилин М.В., Лукашова Л.А., Компанцева Е.В., Куянцева А.М., Богданов А.Н., Мануйлова Т.А. Использование  $\beta$ -циклодекстрина для снижения раздражающего действия дипразина // Фармация. – 1997. – № 3. – С.17-19.
18. Гаврилин М.В., Компанцева Е.В., Ушакова Л.С. Комплекс включения кортизона ацетата с  $\beta$ -циклодекстрином и его свойства // Фармация. – 1993. – № 3. – С.21-23.
19. Носач Л.В., Настасієнко Н.С., Патеї Л.Н., Василенко А.П. Взаємодія моно- та полісахаридів з поверхнею високодисперсного кремнезему // Тез доп. Міжнар. Школи-семінару для молодих вчених “Наноматеріали в хімії і біології” (Київ, 2004). – С.107.
20. Вергейчик Е.Н., Попков В.А., Решетняк Ю.В., Ботезат-Белый Ю.К., Овчаренко Л.П. Дериватографические исследования соединений включения производных пиридина и пиперидина с бета-циклодекстрином // Химико-фарм. журнал. – 1985. – № 10. – С.1270-1274.
21. Некрошус Е.С., Решетняк В.Ю. Получение соединений-включений ортофена и индометацина с  $\beta$ -циклодекстрином и их дериватографический анализ // Фармация. – 1989. – № 3. – С.29-33.
22. Ключков С.В., Компанцева Е.В., Бердник Е.Н., Ботезат-Белый Ю.К., Бабилов Ф.В. Исследование клатратообразования а с метапрогеролом // Химико-фарм. журнал. – 1991. – № 11. – С.67-69.