

3. Vauthier Ch., Dubernet C., Fattal E. et al. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications // *Advanced Drug Delivery Reviews*. — 2003. — Vol. 55. — P. 519–548.
4. Couvreur P., Kante M. et al. Polycyanoacrylate nanocapsules as potential lysosomotropic carriers: preparation, morphological and sorptive properties // *J. Pharm. Pharmacol.* — 1979. — Vol. 31. — P. 331–332.
5. Vaisberg A. Organic solvents. — Moscow: Foreign literature, 1958.
6. Toropceva A.M. Manual for laboratory work on chemistry and technology of high molecular compounds. — Moscow: Chemistry, 1972.
7. А.с. 1168552, USSR. Claim 15.07.83. Method of obtaining of  $\alpha$ -substituted cyanoacrylates. Institute of elementorganic compounds named after A.N.Nesmeyanov / Korshak V.V., Polyakova A.M., Pavlova C.-C.A., Sayid-Galiev E.E., Ashchotova L.M., Lopatina I.V. 3624212/23–04, printed in B.I., 1985, № 27. MKI. C 07 c 121/413, 120/00.
8. Zhabarova L., Tazhbayev Y. et al. Preparation and investigation of antitumor drug Arglabin loaded human serum albumin nanoparticles // *Trends in Cancer Research. Ltd. India*. — 2008. — Vol. 4. — P. 43–47.
9. Page-Clisson M.-E., Pinto-Alphandary H. et al. Development of ciprofloxacin-loaded nanoparticles: physicochemical study of the drug carrier // *J. Controlled Release*. — 1998. — Vol. 56. — P. 23–32.
10. Brasseur F., Couvreur P. et al. Actinomycin D adsorbed on polymethylcyanoacrylate nanoparticles: Increased efficiency against an experimental tumor // *Eur. J.Cancer*. — 1980. — Vol. 16. — P. 1441–1445.

УДК 541.64+678

## Исследование характеристик полиэтилцианоакрилатных наночастиц с капреомицина сульфатом

### Investigation of characteristics of polyethyl cyanoacrylate nanoparticles with capreomycin sulfate

Жапарова Л.Ж.<sup>1</sup>, Тажбаев Е.М.<sup>1</sup>, Буркеев М.Ж.<sup>1</sup>, Кажмуратова А.Т.<sup>1</sup>, Ван Херк А.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Карагандинский государственный университет им. Е.А.Букетова (e-mail: lyazzh@mail.ru);

<sup>2</sup>Эйнховенский технологический университет, Нидерланды

Құрамына өкпе қабыну (туберкулезге) қарсы препарат «Капреомицин сульфаты» енгізілген полиэтилцианоакрилатты нанобөлшектердің физикалық-химиялық сипаттамалары зерттелген. Құрамында дәрілік зат бар және дәрілік затсыз полимерлердің салыстырмалы талдау нәтижелері бойынша капреомицин сульфатының қатысында полиэтилцианоакрилаттың термиялық деградациясы баяулайтыны көрсетілген. Алынған термогравиметриялық қисықтар мен ИҚ-спектрлері дәрілік заттың полимерлі матрицаға енгізілгенін дәлелдеді. Полиэтилцианоакрилатты капреомицин сульфатымен иммобилизациялау полимердің физикалық-химиялық параметрлерін өзгертеді.

Physicochemical characteristics of polyethyl cyanoacrylate nanoparticles containing antitumor drug preparation capreomycin sulfate were investigated. According to the results obtained by comparative analysis of polymers with and without drug it was shown that thermal degradation of polyethyl cyanoacrylate slowed down in the presence of capreomycin sulfate. Obtained thermal curves and IR-spectra confirm incorporation of the drug preparation into polymer matrix. Immobilization of polyethyl cyanoacrylate with capreomycin sulfate changes physicochemical parameters of the polymer.

На сегодняшний день одной из актуальных задач медицины и фармации является оптимизация свойств и биодоступности современных лекарственных средств. Это достигается получением полимер-иммобилизованных комплексов лекарственных препаратов на основе биосовместимых природных и синтетических полимеров. Из ограниченного списка полимеров, широко применяемых в медицинской практике, поливинилкапролактан, полимолочная и полигликолевая кислоты, поли- $\epsilon$ -капролактан и полиалкилцианоакрилаты представляют собой большую важность благодаря своим свойствам [1]. Полиалкилцианоакрилаты за последние несколько десятилетий успешно используются в фармацевтической и биомедицинской сферах как хирургические клеи для покрытия ран, так и в качестве коллоидных носителей для различных биологически активных агентов. Известны примеры включения пептидов, нуклеиновых кислот, лекарственных препаратов и других веществ в полиалкилцианоакрилаты с целью достижения направленной доставки вещества [2–5]. В связи с этим в настоящей работе в качестве полимерного носителя выбран полиэтилцианоакрилат.

Ранее в работе [6] получены полиэтилцианоакрилатные наночастицы, иммобилизованные лекарственным препаратом Капреомицина сульфатом, размерами 140–150 нм и молекулярной массой 2000. Капреомицина сульфат (КС) на сегодняшний день, наряду с другими высокоактивными лекарствами, широко используется в химиотерапии туберкулеза. Включение данного лекарства в полимерную систему позволит повысить терапевтический эффект препарата посредством достижения пролонгированного высвобождения. Иммобилизацию Капреомицина сульфата в полиэтилцианоакрилатные наночастицы проводили двумя способами: 1) растворением лекарства в реакционной среде до введения мономера; 2) добавлением лекарственного препарата в процессе полимеризации (через некоторое время после введения мономера). При получении полимер-иммобилизованных комплексов лекарств важно знать, что основная часть лекарственного препарата находится в матрице полимера. Для получения информации об иммобилизации лекарственного вещества в полимерную систему могут быть использованы различные физико-химические методы анализа, такие как ИК-, УФ- и ЯМР-спектроскопии, термогравиметрия и др.

В настоящей работе для изучения включения лекарственного препарата в полиэтилцианоакрилатные наночастицы (ПЭЦА НЧ) использованы ИК-спектроскопические и термогравиметрические методы анализа.

Химическая формула лекарства приведена на рисунке 1.

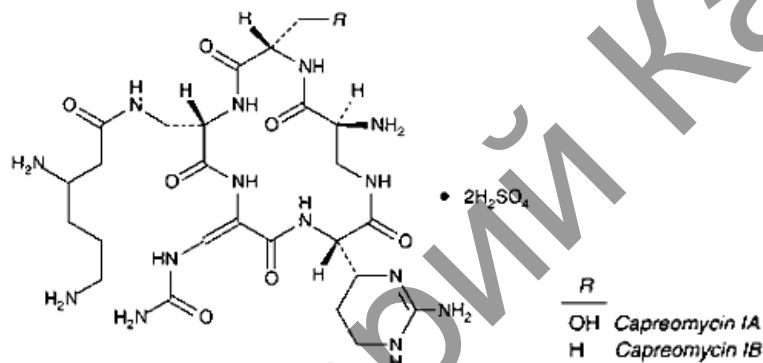


Рис. 1. Структурная формула противотуберкулезного препарата Капреомицина сульфата

#### Экспериментальная часть

**Материалы.** Этилцианоакрилат, Твин-80 и ацетон были предоставлены фирмой Sigma Aldrich (Германия).

**Получение ПЭЦА НЧ, содержащих Капреомицина сульфат.** ПЭЦА НЧ приготовлены методом анионной полимеризации подобно методике, приведенной в работах [3–6]. Мономер добавляли в предварительно подкисленную до pH 2–2,5 воду (с помощью 0,1 М HCl), содержащую ПАВ (Твин 80). Процесс длился 2 часа при комнатной температуре (25 °C) при постоянном перемешивании (800 об/мин).

Полученные наночастицы выделяли осаждением с помощью ультрацентрифугирования (20000 об/мин), затем промывали буферным раствором, высушивали до постоянной массы.

#### Характеристика ПЭЦА НЧ с лекарством и без него

**ИК-спектроскопия.** Для снятия спектров полимеров предварительно приготовили образцы исследуемых веществ с KBr. ИК-спектры полимеров с лекарством и без него снимали на приборе Bio-Rad Infrared Excalibur 3000 FTIR spectrometer.

**Термогравиметрический анализ** полимеров проводили на приборе Perkin Elmer Pyris 6 instrument в потоке азота (25 см<sup>3</sup>/мин), нагревая образец со скоростью 10 °C/мин.

#### Результаты и их обсуждение

Полимеры, иммобилизованные лекарством, могут быть синтезированы добавлением лекарственного препарата в реакционную среду до начала полимеризации или через некоторое время в систему полимеризующегося мономера. Поэтому первоначально полиэтилцианоакрилатные наночастицы, содержащие лекарство, нами получены растворением Капреомицина сульфата в реакционной среде. Однако физико-химические характеристики синтезированных частиц не полностью удовлетворяли

требованиям полимерных носителей, так как в системе наблюдалось образование агломератов частиц размерами, превышающими 1000 нм, что неприемлемо при введении полимерных комплексов лекарства в организм. Это может быть связано с нуклеофильной природой лекарства, содержащего в своей структуре несколько аминогрупп. Известно, что алкилцианоакрилаты являются очень реакционноспособными соединениями, в связи с этим, как было упомянуто выше, их полимеризация может протекать в присутствии слабых оснований, даже таких, как вода. Поэтому вещества основной природы могут инициировать полимеризацию алкилцианоакрилата, в результате чего мономер может прореагировать с лекарством и связаться ковалентно, при этом изменив химическую структуру лекарства, которая, в свою очередь, может вызвать снижение или даже потерю биологической активности лекарства.

В литературе имеется ряд работ, где показано, что однородные НЧ могут быть получены при добавлении лекарства в реакционную среду после стадии инициирования. Так, известны примеры эффективной иммобилизации в полиалкилцианоакрилатные НЧ лекарственных веществ способом добавления его через 5, 20, 25, 30, 60, 120 и даже 180 мин после начала реакции [2–5, 7]. Таким образом, лекарство может быть успешно включено в полимерную матрицу и/или адсорбировано на поверхности полимера. Исходя из этого в следующем эксперименте лекарство добавляли через некоторое время после начала реакции.

В результате были получена стабильная система полиэтилцианоакрилатных наночастиц, иммобилизованных Капреомицина сульфатом.

ИК-спектры ПЭЦА, Капреомицина сульфата и полимера, содержащего лекарство, приведены на рисунке 2.

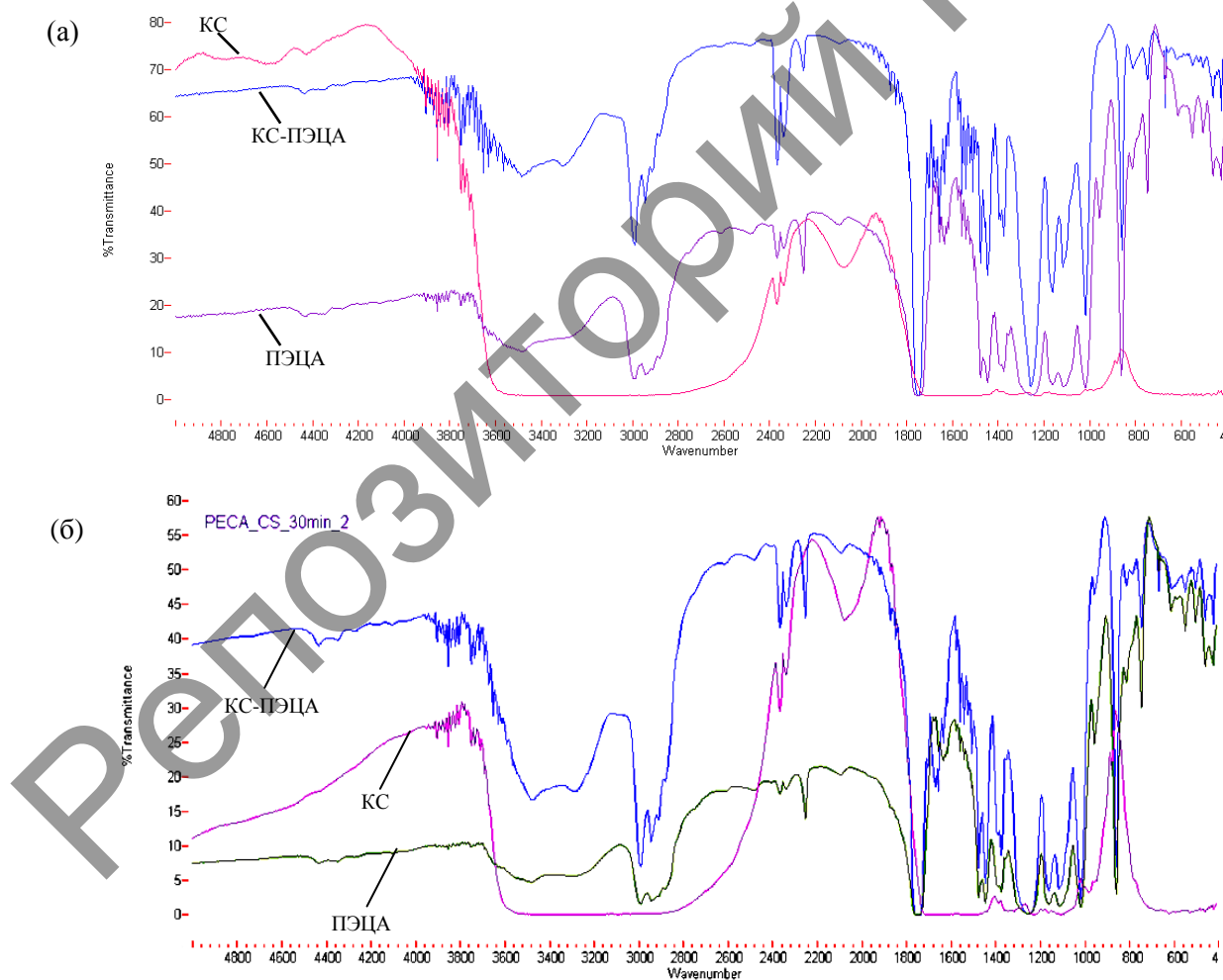


Рис. 2. ИК-спектры с КВг для полимера (ПЭЦА), свободного лекарства (КС) и полимера с лекарством (КС-ПЭЦА): *а* — лекарство добавлено в полимеризационную среду до начала реакции; *б* — лекарство добавлено в полимеризационную среду через 30 мин после начала реакции

Спектр полимера без лекарства (ПЭЦА) соответствует ИК-спектрам, приведенным в литературных источниках [1–4]. Из спектра полимера с Капреомицина сульфатом можно заключить, что основные характеристические пики ПЭЦА  $2988\text{ см}^{-1}$  (m,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ),  $1750\text{ см}^{-1}$  (vs,  $\text{C}=\text{O}$ ),  $2250\text{--}2249\text{ см}^{-1}$  (m,  $\text{CN}$ ),  $1255\text{--}1254\text{ см}^{-1}$  (vs,  $\text{C}-\text{O}$ ) не изменились после введения лекарства в полимерную матрицу. Это является свидетельством того, что лекарство не связано с полимером химически (ковалентными связями).

Вследствие сложной структуры лекарства КС в его спектре не видны пики отдельных химических групп (рис. 2). В обоих спектрах (ПЭЦА без лекарства и с КС) пик на  $3129\text{--}3126\text{ см}^{-1}$  (w,  $\text{C}=\text{C}$ ), соответствующий двойной связи в структуре мономера, не найден, что является подтверждением того, что этилцианоакрилат прореагировал полностью.

Иммобилизацию полимера Капреомицина сульфатом также изучали термогравиметрией. Результаты приведены на рисунке 3.

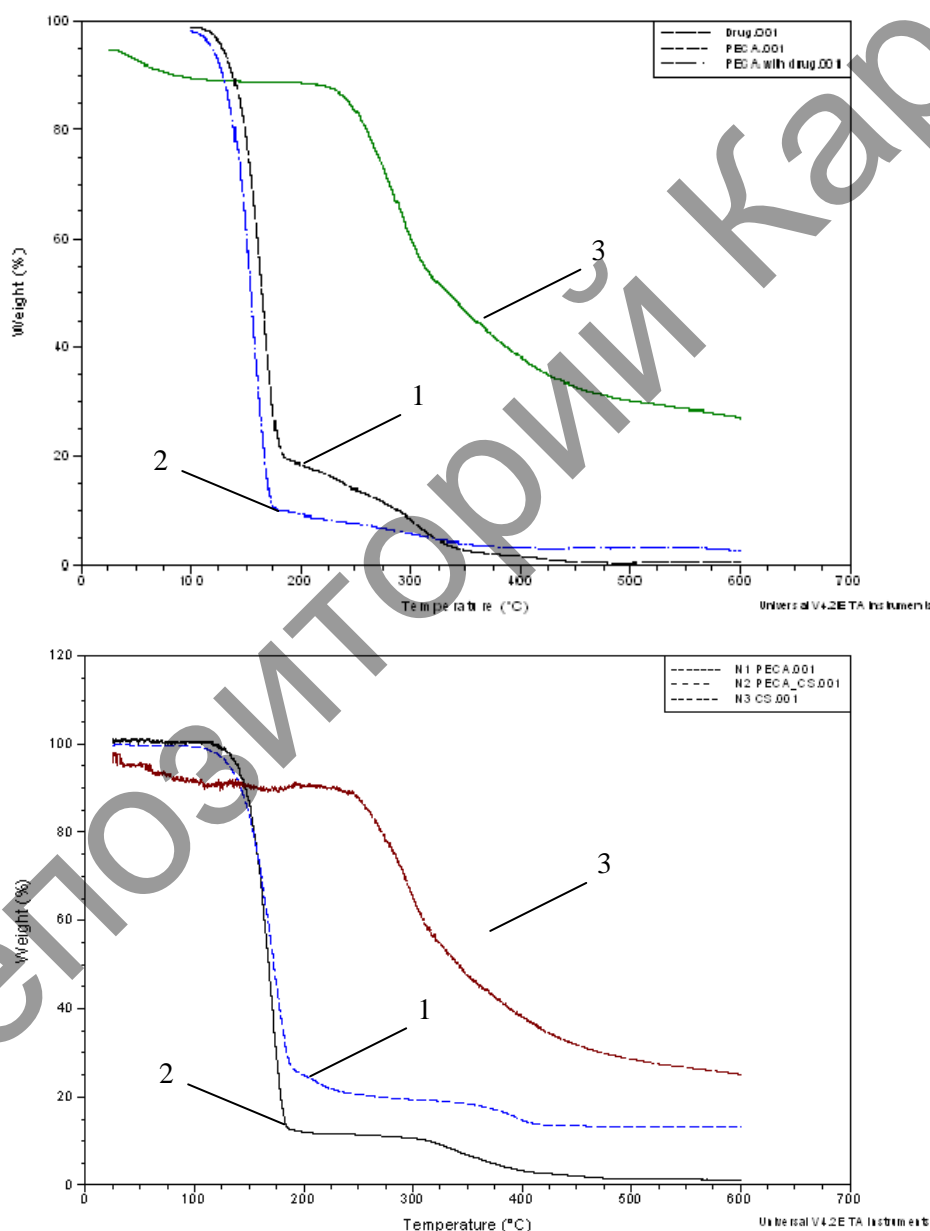


Рис. 3. Термогравиметрические кривые ПЭЦА (1), КС-ПЭЦА (2) и КС (3) при скорости нагревания  $10^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ : *a* — лекарство добавлено в полимеризационную среду до начала реакции; *б* — лекарство добавлено в полимеризационную среду через 30 мин после начала реакции

Кривую термической деградации ПЭЦА можно описать, разделив ее на 3 части: ПЭЦА без лекарства начинает деградировать при 120 °С (99,8 %), процесс идет стремительно до 184,8 °С, где более 75 % ПЭЦА подверглось деградации, после достижения этой точки деградация полимера идет гораздо медленнее до 400 °С, при этом в системе остается только 15 % полимера. И по достижении этой точки деградация полимера протекает умеренно.

Термическая деградация полимера, содержащего лекарство, начинается гораздо раньше — при 77,5 °С (99,7 %), но протекает медленнее. При 184,8 °С более 85 % полимера деградировало, после этого скорость деградации ПЭЦА, иммобилизованного лекарством, снижается и до 310 °С идет стабильно. Далее деградация полимера идет быстрее, и при 500 °С в системе остается менее 3 % полимера с лекарством.

Из полученных кривых можно сделать вывод о том, что термическая деградация полимера, содержащего лекарство, протекает медленнее деградации ПЭЦА без лекарства (рис. 3). Изменение в скорости термической деградации полимера произошло из-за влияния иммобилизованного лекарства, содержащегося в структуре полимерной матрицы. При этом нужно отметить, что присутствие лекарства способствует ускорению процесса термической деградации ПЭЦА.

Таким образом, данные, полученные физико-химическими методами анализа (ИК-спектроскопии и термогравиметрии) позволяют сделать вывод о том, что включение некоторого количества лекарства в полимерную матрицу НЧ ПЭЦА изменяет их физико-химические характеристики.

#### References

1. *Soppimath S. Kumaresh, Aminabhavi M. Tejrai, Kulkarni R. Anadrao et al.* Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. Review // *J. Controlled Release*. — 2001. — Vol. 70. — P. 1–20.
2. *Cariline O. Sullivan, Birkinshaw C.* In vitro degradation of insulin-loaded poly(n-butyl cyanoacrylate) nanoparticles // *Biomaterials*. — 2004. — Vol. 25. — P. 4375–4382.
3. *Zhou Y., Bei F., Ji H. et al.* Property and quantum chemical investigation of poly(ethyl  $\alpha$ -cyanoacrylate) // *J. Molecular Structure*. — 2005. — Vol. 37. — P. 117–123.
4. *Denchev Z., Tomanova M., Lederer A.* On the anionic homo- and copolymerization of ethyl- and butyl-2-cyanoacrylates // *J. Polym. Sci. Part A: Polymer Chemistry*. — 2008. — P. 5142–5156.
5. *Simeonova M., Ivanova G., Enchev V.* Physicochemical characterization and in vitro behavior of daunorubicin-loaded poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles // *Acta Biomaterialia*. — 2009. — № 5. — P. 2109–2121.
6. *Zhaporova L.Zh., Tazhbayev Y.M., Burkeev M.Zh.* IVth International scientific-practical conference «Theoretical and experimental chemistry», devoted to 80<sup>th</sup> anniversary of professor M.I.Bakeev (4–5 oct. 2010). Karaganda: KarSU. — 2010. — P. 207–212.
7. *Page-Clisson M.-E., Pinto-Alphandary H., Ourevitch M.* Development of ciprofloxacin-loaded nanoparticles: physicochemical study of the drug carrier // *J. Controlled Release*. — 1998. — Vol. 56. — P. 23–32.