

МЕТАЛЛ-ОРГАНИЧЕСКИЙ КАРКАС НА ОСНОВЕ γ -ЦИКЛОДЕКСТРИНА КАК СИСТЕМА ДОСТАВКИ НИФЛУМОВОЙ КИСЛОТЫ

© 2022 г. Е. С. Делягина^{a,b}, М. А. Агафонов^a, А. А. Гарибян^a, И. В. Терехова^{a,*}

^aИнститут химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново, Россия

^bИвановский государственный университет, Иваново, Россия

*e-mail: ivt@isc-ras.ru

Поступила в редакцию 30.12.2021 г.

После доработки 24.01.2022 г.

Принята к публикации 25.01.2022 г.

Металл-органический каркас, полученный на основе γ -циклодекстрина и катионов K^+ методом диффузии паров антирастворителя, предложен как система доставки нифлумовой кислоты – нестероидного противовоспалительного соединения, имеющего ограниченную растворимость в водной среде. Рассмотрены способы загрузки нифлумовой кислоты в каркас, полученные композиты охарактеризованы с привлечением методов РФА, низкотемпературной сорбции/десорбции азота и ИК-спектроскопии. Рассмотрено влияние инкапсулирования в металл-органический каркас на кинетику высвобождения нифлумовой кислоты и ее мембранную проницаемость.

Ключевые слова: металл-органический каркас, циклодекстрин, нифлумовая кислота, инкапсулирование, комплексообразование

DOI: 10.31857/S0044453722080088

Металл-органические каркасы (MOFs) – кристаллические структуры, состоящие из органических лигандов, координированных ионами металлов [1], и представляющие собой большой класс перспективных гибридных материалов, которые имеют различные области применения [2]. В настоящее время получено множество различных металл-органических каркасов, но только некоторые из них могут быть использованы в качестве систем доставки лекарств. Для данного применения MOF должны обладать рядом свойств, таких как биосовместимость, высокая удельная поверхность и стабильность [3–5].

К числу таких соединений относятся металл-органические каркасы на основе циклических олигосахаридов природного происхождения – циклодекстринов (CD) [6–8]. Циклодекстрины, образующиеся путем ферментативного расщепления крахмала, состоят из остатков D-глюкопиранозы, связанных $\alpha(1-4)$ -гликозидной связью таким образом, что молекула напоминает форму полого усеченного конуса. Циклодекстрины полностью биосовместимы и могут быть использованы в качестве систем доставки лекарств [9, 10]. Полученные относительно недавно металл-органические каркасы на основе циклодекстринов (CD-MOF) обладают развитой удельной поверхностью, которая определяется наличием пор разного диаметра, благодаря чему они способны не

только адсорбировать молекулы лекарственных соединений, но и влиять на их физико-химические свойства [11–14]. Например, известно включение в CD-MOF нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) – лекарственных препаратов, которые обладают обезболивающим, жаропонижающим и противовоспалительным действием и широко используются в лечении самых разных заболеваний. НПВС плохо растворяются в водных средах и занимают одно из ведущих мест по количеству и тяжести побочных эффектов. В связи с этим, поиск эффективных систем доставки НПВС является одной из актуальных задач, для решения которой могут быть предложены CD-MOF. Как известно из литературы, в CD-MOF могут быть загружены ибупрофен [15, 16], фенбуфен [17], диклофенак [18]. На примере ибупрофена показано, что молекулы лекарства сначала заполняют узкие цилиндрические поры (0.78 нм) каркаса, а затем поры большего размера (1.7 нм) [15]. В работе [16] отмечено “взрывное” высвобождение ибупрофена, загруженного в γ CD-MOF, а именно 70% лекарства высвобождается за 30 мин.

Нифлумовая кислота (NIF), относящаяся к группе НПВС, применяется для снятия боли при ревматоидном артрите, а также в лечении многих других воспалительных заболеваний. Она плохо растворима в водной среде (10^{-5} – 10^{-4} М [19]), что

побуждает к поиску эффективных солиоблизаторов и носителей. В литературе в качестве систем доставки NIF применяются коллагеновые матриксы [20], наноэмульсии на основе твинов [21], микросферы с содержанием полиэтиленгликолей [22]. γ CD-MOF могут быть альтернативными биосовместимыми носителями. В связи с этим, цель данной работы заключалась в изучении процесса иммобилизации нифлумовой кислоты в металл-органический каркас на основе γ -циклодекстрина (γ CD-MOF) и последующем выявлении влияния γ CD-MOF на фармакологически значимые свойства этого лекарственного соединения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

γ CD-MOF был получен методом диффузии паров антирастворителя. Водный раствор γ -циклодекстрина и КОН, взятых в мольном соотношении 1:8, был помещен в кристаллизатор, заполненный антирастворителем (алифатическим спиртом), в котором циклодекстрин не растворяется [6]. Выпавший в осадок γ CD-MOF промылся спиртом и активировался вакуумной сушкой (80°C, 24 ч). γ CD-MOF был загружен нифлумовой кислотой методами сорбции из раствора (γ CD-MOF/NIF-1) и соосаждения (γ CD-MOF/NIF-2). Определенное спектроскопическим методом (Shimadzu UV-1800) содержание лекарственного соединения в полученных композитах γ CD-MOF/NIF-1 и γ CD-MOF/NIF-2 составило 1.4 мас. %, и 3.3 мас. % соответственно.

Изучение адсорбции NIF на γ CD-MOF проводилось в среде этанола при 25°C. Количество адсорбированной нифлумовой кислоты (Q_e) рассчитывали по формуле:

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{g_{\gamma\text{CD-MOF}}}, \quad (1)$$

где C_0 – начальная концентрация раствора NIF (мг/мл); C_e – концентрация NIF в момент равновесия (мг/мл); V – объем раствора NIF (мл); $g_{\gamma\text{CD-MOF}}$ – количество γ CD-MOF (г).

Исследование методом рентгенофазового анализа проводилось на дифрактометре D8 Advance фирмы Bruker AXS с использованием медного излучателя ($\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$, напряжение 40 кВ, сила тока 40 мА). Изотермы адсорбции-десорбции азота были получены на автоматическом анализаторе удельной поверхности и размера пор Quantachrome (NOVA Series 1200e). ИК-спектры регистрировались на ИК-фурье-спектрометре VERTEX 80v (Bruker).

Высвобождение NIF, находящейся в чистом виде, в составе композита γ CD-MOF/NIF и физической смеси с γ -циклодекстрином, было исследовано при 37°C с применением стандартизованного фармакопейного тестера растворения

Labindia по известной методике “вращающаяся корзинка” (USP1) [23]. Профили высвобождения представляют собой зависимости $\omega = f(t)$, где ω – количество NIF, перешедшее в среду растворения (мас. %); t – время (мин). Концентрация NIF определялась спектрофотометрически (Shimadzu UV-1800).

Исследование мембранной проницаемости NIF проводилось с помощью диффузионной ячейки Франца в фосфатном буферном растворе (рН 7.4) при 37°C. В донорную камеру загружался раствор NIF или композита γ CD-MOF/NIF, в акцепторную – буферный раствор. Между двумя камерами помещалась целлюлозная мембрана (MWCO 12 кДа). Отбор проб проводился из акцепторной камеры с временным интервалом 30 мин, причем отобранный объем пробы компенсировался чистым буферным раствором. Концентрация NIF в акцепторной камере определялась спектрофотометрически (Shimadzu UV-1800). На основе полученных результатов строились зависимости количества NIF, перешедшего через мембрану, от времени, тангенс угла наклона которых представляет собой коэффициент массопереноса (J).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нифлумовая кислота была загружена в γ CD-MOF методами сорбции из спиртового раствора и соосаждения. Полученные композиты γ CD-MOF/NIF-1 и γ CD-MOF/NIF-2 были охарактеризованы с привлечением различных методов физико-химического анализа. На рис. 1 представлены дифрактограммы γ CD-MOF, γ CD-MOF/NIF-1 и γ CD-MOF/NIF-2. Как видно, основные рефлексы γ CD-MOF сохраняются на дифрактограммах обоих композитов, при этом отсутствуют рефлексы NIF, наиболее выраженные при 21.5° и 26° [24]. Данные РФА свидетельствуют о том, что NIF в составе γ CD-MOF/NIF не образует отдельной фазы и не вызывает изменений в кристаллической структуре носителя.

Исходный γ CD-MOF имеет развитую удельную поверхность, значение которой по методу БЭТ составило 872 м²/г. Включение NIF в γ CD-MOF приводит к понижению удельной поверхности до 751 м²/г (для γ CD-MOF/NIF-1) и 192 м²/г (для γ CD-MOF/NIF-2), что коррелирует с содержанием лекарственного соединения в композитах. Как было определено в работе [6], γ CD-MOF имеет поры разного диаметра – малые (0.78 нм) и большие (1.7 нм). Размеры молекулы NIF (1.0 × 0.69 нм), приближенно рассчитанные в программе Gaussian 09, соответствуют размерам пор каркаса, т.е. лекарственное соединение может включаться в них. Однако удельная поверхность обоих композитов не уменьшается до нуля,

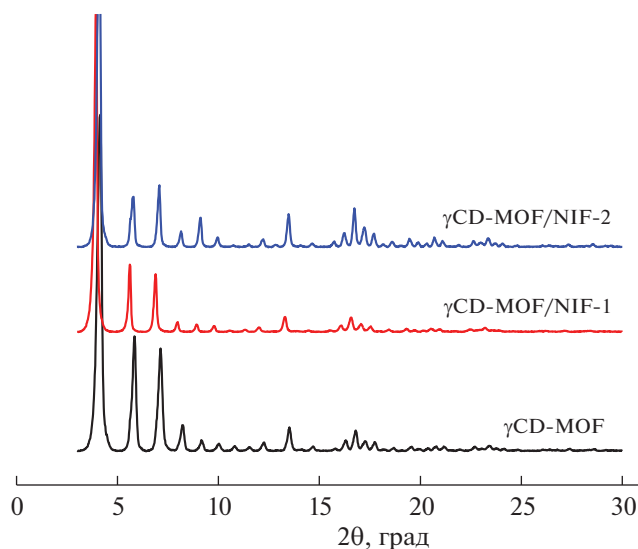


Рис. 1. Дифрактограммы γ CD-MOF и композитов γ CD-MOF/NIF.

что указывает на существование вакантных пор, не занятых NIF (рис. 2). Предположительно, при загрузке соосаждением NIF способна занимать внутренние поры γ CD-MOF, что сказывается на существенном различии в удельной поверхности образцов, загруженных разными способами.

Для более детального изучения адсорбции NIF на γ CD-MOF была получена изотерма адсорбции (рис. 3), представляющая зависимость между количеством адсорбированных частиц на единицу массы адсорбента и равновесной концентрацией адсорбата в растворе. Для выявления механизма адсорбции NIF на γ CD-MOF, изотерма адсорбции была описана с помощью математических моделей Ленгмюра, Фрейндлиха и Темкина. Исходя из полученных расчетов, сорбция NIF на γ CD-MOF лучше описывается моделью Фрейндлиха ($R^2 > 0.98$), которая предполагает многослойную адсорбцию на неоднородных поверхностях. По мере увеличения концентрации адсорбата его содержание на поверхности адсорбента также увеличивается и, соответственно, энергия сорбции экспоненциально уменьшается [25].

Для установления природы адсорбции использовалась модель Дубинина–Радушкевича [26]:

$$\ln Q_e = \ln Q_{\max} - K_{DR}\epsilon^2, \quad (2)$$

где K_{DR} – постоянная изотермы Дубинина–Радушкевича (моль²/Дж²); ϵ – потенциал Поляни (Дж/моль), который можно рассчитать по уравнению:

$$\epsilon = RT \ln \left(1 + \frac{1}{c_e} \right), \quad (3)$$

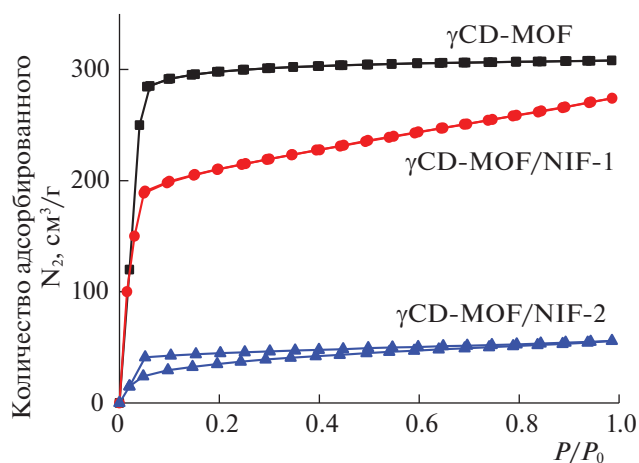


Рис. 2. Изотермы сорбции/десорбции азота на γ CD-MOF и композитах γ CD-MOF/NIF.

где R – газовая постоянная; T – температура; c_e – равновесная концентрация NIF. Зависимость $\ln Q_e$ от ϵ^2 показана на рис. 3.

Свободная энергия сорбции NIF на γ CD-MOF может быть рассчитана из соотношения:

$$E = \frac{1}{\sqrt{2K_{DR}}}. \quad (4)$$

Свободная энергия адсорбции E обычно используется для выявления типа адсорбции: для химической адсорбции $E = 8–16$ кДж/моль, для физической адсорбции $E < 8$ кДж/моль [27]. Полученная энергия адсорбции составила 4.4 кДж/моль, что позволяет предположить, что поглощение NIF на γ CD-MOF является физической сорбцией.

Для изучения взаимодействий между NIF и γ CD-MOF были сняты ИК-спектры рассматриваемых образцов (рис. 4). ИК-спектры композитов γ CD-MOF/NIF-1 и γ CD-MOF/NIF-2 демонстрируют сохранение всех полос, характерных для исходных γ CD-MOF и NIF. Кроме того, ИК-спектры композитов и физической смеси совпадают. Полученные результаты указывают на физическую адсорбцию NIF на γ CD-MOF, т.е. удержание NIF в γ CD-MOF происходит за счет вандерваальсовых взаимодействий.

Интересно было проследить влияние γ CD-MOF на фармакологически значимые свойства NIF. С этой целью процессы растворения NIF и композита γ CD-MOF/NIF-2 (как наиболее эффективно загруженного) были изучены на тестере растворимости. Для сравнения была рассмотрена физическая смесь NIF с γ -циклодекстрином (γ -CD + NIF). В качестве сред растворения были использованы буферные растворы, моделирующие среду желудка (pH 1.6) и кишечника (pH 6.8) и

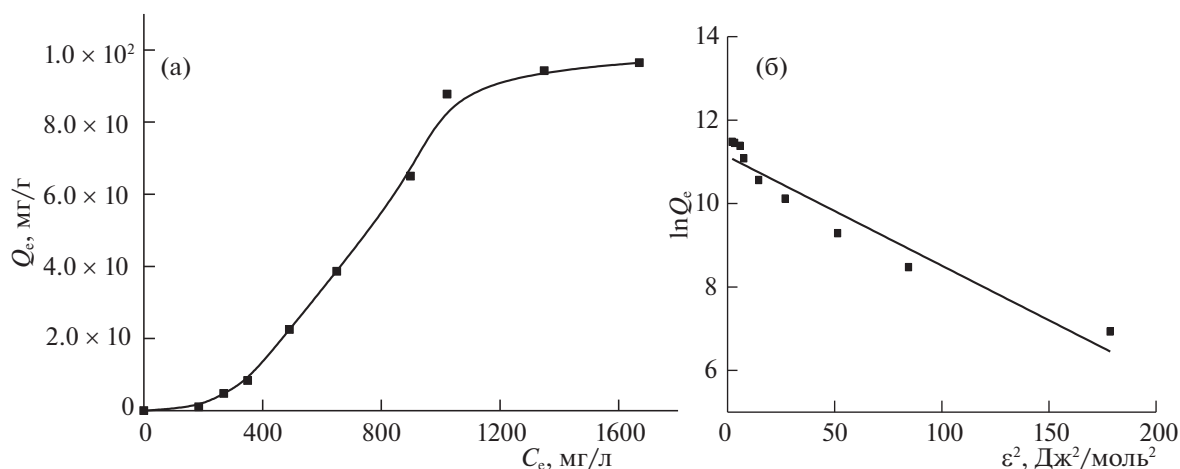


Рис. 3. Изотерма адсорбции NIF на γ CD-MOF в среде этанола при 25°C (а) и зависимость, построенная по модели Дубинина–Радушкевича (б).

позволяющие максимально приблизить результаты исследований *in vitro* к прогнозируемому поведению препаратов *in vivo*. Профили высвобождения изображены на рис. 5.

Как видно из рис. 5, в солянокислом буфере (pH 1.6) в течение 1 ч высвобождается 14% чистой NIF, а в течение 6 часов – 40%. В фосфатном буферном растворе (pH 6.8) растворимость NIF несколько выше, и в течение 1 часа высвобождается 40% кислоты, тогда как полное высвобождение было достигнуто за 8 ч. Полученные результаты свидетельствуют о том, что скорость высвобождения NIF зависит от кислотности среды. Указанный процесс медленнее протекает в кислой среде. Возможно, это связано с разным ионным состоянием NIF в зависимости от pH среды. При значениях pH, соответствующих кислотности желудка, преобладает катионная форма нифлумовой кис-

лоты, тогда как анионная форма присутствует при pH > 5 [28, 29]. Таким образом, переход анионных форм NIF в раствор является более благоприятным.

Как следует из рис. 5, скорость высвобождения NIF из композитов γ CD-MOF/NIF-2 значительно увеличивается как в кислой, так и в щелочной средах. Полное высвобождение NIF наблюдается уже через 20 мин. Увеличение скорости высвобождения из композитов можно объяснить тем, что NIF включается в каркас и находится в его порах в молекулярном виде. При контакте с растворителем происходит разрушение структуры металл-органического каркаса, и NIF сразу переходит в раствор как в чистом виде, так и в составе комплексов включения с γ -циклодекстрином. Однако роль комплексообразования не первостепенная, что подтверждается поведением физической смеси (γ -CD + NIF). Кинетика процессов растворения чистой NIF и физической смеси (γ -CD + NIF) близка (рис. 5).

Мембранная проницаемость – второе по значимости свойство, которое определяет биодоступность лекарственного препарата. Поэтому, интересно проследить, как будет влиять γ -циклодекстрин на мембранную проницаемость NIF, которая высвобождается из композита. На рис. 6 приведены значения коэффициентов мембранной проницаемости кислоты (P) через модельную целлофановую мембрану (MWCO 12 кДа), рассчитанные по выражению:

$$P = \frac{J}{C_0}, \tag{5}$$

где C_0 – исходная концентрация NIF в донорной камере.

Сравнительный анализ значений P (рис. 6) показывает уменьшение проницаемости в 1.5 раза в

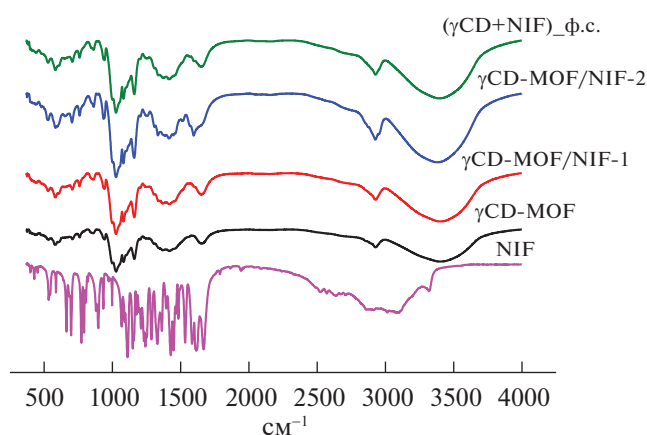


Рис. 4. ИК-спектры NIF, физической смеси (γ CD + NIF), композитов γ CD-MOF/NIF-1 и γ CD-MOF/NIF-2.

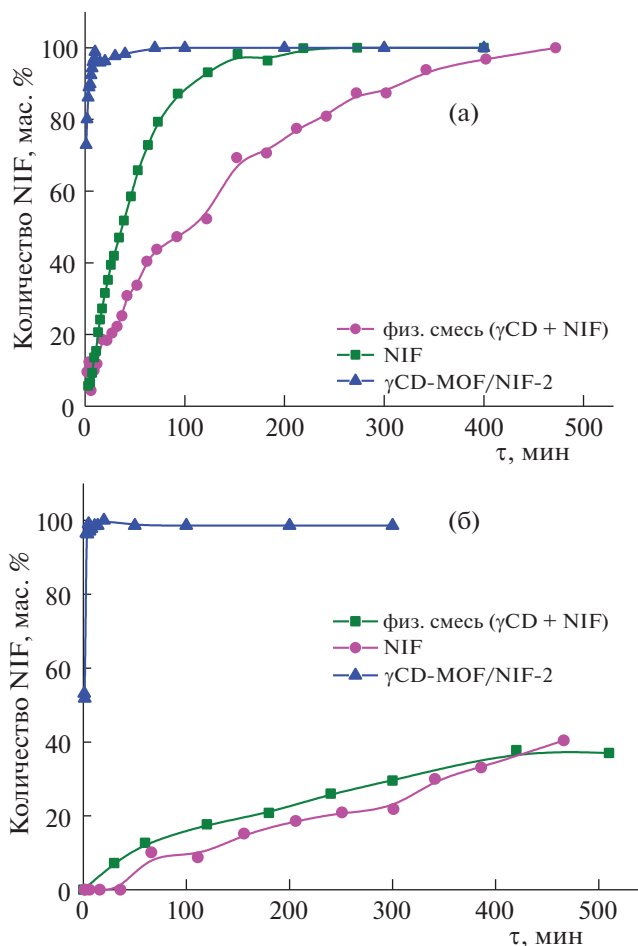


Рис. 5. Профили высвобождения нифлумовой кислоты при 37°C и pH 6.8 (а), 1.6 (б).

случае композита. Данный факт можно объяснить комплексообразованием NIF с γ -циклодекстрином. Уменьшение P в этом случае вызвано понижением коэффициента диффузии нифлумовой кислоты за счет увеличения размера ее частиц при образовании комплексов включения с циклодекстрином.

Для выявления влияния комплексообразования с циклодекстрином на проницаемость NIF через мембрану нами дополнительно была снята зависимость P от концентрации γ -циклодекстрина (рис. 7). Как видно из рис. 7, увеличение концентрации γ -циклодекстрина в растворе ведет к плавному снижению проницаемости нифлумовой кислоты с постепенным выходом на плато. Данный эффект связан, прежде всего, с наличием взаимодействия между лекарством и циклодекстрином. Взаимодействие нифлумовой кислоты с циклодекстрином ведет к уменьшению доли свободных молекул лекарства в растворе, что вызывает ослабление концентрационного градиента и уменьшение коэффициентов проницаемости. Не

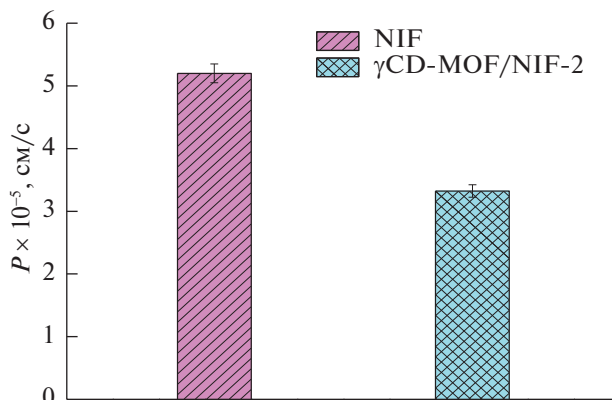


Рис. 6. Коэффициенты проницаемости нифлумовой кислоты (pH 7.4, 37°C).

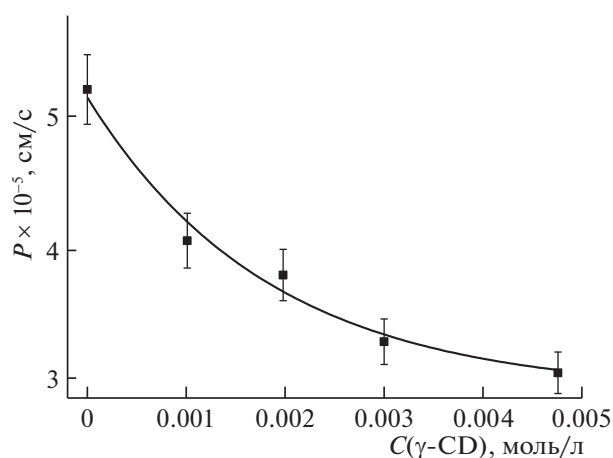


Рис. 7. Зависимость коэффициента проницаемости нифлумовой кислоты от концентрации γ -циклодекстрина (pH 7.4, 37°C).

исключается прохождение образующихся комплексов через используемую мембрану, однако со скоростью меньшей, чем у самой кислоты.

В заключение, включение нифлумовой кислоты в металл-органический каркас на основе γ -циклодекстрина методом соосаждения является более эффективным по сравнению с сорбцией из раствора. Нифлумовая кислота, иммобилизованная в каркас, проявляет улучшенные показатели растворимости за счет нахождения в носителе на молекулярном уровне, т.е. при разрушении каркаса она переходит в раствор в виде отдельных молекул и комплексов включения с γ -циклодекстрином. При растворении γ CD-MOF/NIF в одной среде происходит разрушение композитов, и кислота высвобождается в раствор в виде комплекса включения с циклодекстрином. Вследствие комплексообразования происходит контролируемое концентрацией циклодекстрина понижение коэффициента проницаемости кислоты через модельную целлюлозную мембрану. Обнаруженное снижение мембранной проницаемости

не является критическим и не должно сильно отразиться на биодоступности препарата.

Исследование выполнено в рамках поддержанного федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования “Ивановский государственный университет” гранта № 60–21Г. Эксперименты РФА, низкотемпературная адсорбция/десорбция азота, ИК-спектроскопия выполнены на оборудовании ЦКП “Верхневолжский региональный центр физико-химических исследований” при ИХР РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Симагина А.А., Полинский М.В., Виноградов А.В. и др. // Успехи химии. 2018. Т. 87. № 9. С. 831. <https://doi.org/10.1070/RCR4797>
2. Бутова В.В., Солдатов М.А., Гуда А.А. и др. // Успехи химии. 2016. Т. 85. № 3. С. 280. <https://doi.org/10.1070/RCR4554>
3. Li H., Eddaoudi N., O'Keefe M. et al. // Nature. 1999. V. 402. P. 276. <https://doi.org/10.1038/46248>
4. Forgan R.S., Smaldone R.A., Gassensmith J.J. et al. // Am. Chem. Soc. 2012. V. 134. P. 406. <https://doi.org/10.1021/ja208224f>
5. He S., Wu L., Li X. et al. // Acta Pharm. Sin. B. 2021. V. 11. P. 2362. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.03.019>
6. Smaldone R.A., Forgan R.S., Furukawa H. et al. // Angew. Chem. Int. Ed. 2010. V. 49. P. 8630. <https://doi.org/10.1002/anie.201002343>
7. Roy I., Limketkai B., Botros Y.Y. et al. // Acc. Chem. Res. 2020. P. 105. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00537>
8. Rajkumara T., Kukkara D., Kima K.-H. et al. // J. Ind. Eng. Chem. 2019. V. 72. P. 50. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.12.048>
9. Kumar A., Kumar D., Gautam M. et al. // Lett. Drug. Des. Discov. 2013. V. 10. № 9. P. 853. <https://doi.org/10.2174/15701808113109990016>
10. Gidwani B., Vyas A. // Biomed. Res. Int. 2015. P. 198268. <https://doi.org/10.1155/2015/198268>
11. Moussa Z., Hmadeh M., Abiad M.G. et al. // Food Chem. 2016. V. 212. P. 485. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.013>
12. Zhang G., Meng F., Guo Z. et al. // J. Microencapsul. 2018. V. 35. № 3. P. 249. <https://doi.org/10.1080/02652048.2018.1462417>
13. Ke F., Zhang M., Qin N. et al. // J. Mater. Sci. 2019. V. 54. P. 10420. <https://doi.org/10.1007/s10853-019-03604-7>
14. Roy I., Stoddart J.F. // Acc. Chem. Res. 2021. V. 54. P. 1440. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.0c00695>
15. Bernini M.C., Fairen-Jimenez D., Pasinetti M. et al. // J. Mater. Chem. B. 2014. V. 2. P. 766. <https://doi.org/10.1039/C3TB21328E>
16. Li H., Lv N., Li X. et al. // Nanoscale. 2017. V. 9. P. 7454. <https://doi.org/10.1039/C6NR07593B>
17. Liu B., He Y., Han L. et al. // Cryst. Growth Des. 2017. V. 17. P. 1654. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.6b01658>
18. Abuçafya M.P., Caetano B.L., Chiari-Andréoa B.G. et al. // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2018. V. 127. P. 112. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.02.009>
19. Pobudkowska A., Domańska U. // Chem. Ind. Chem. Eng. Q. 2014. V. 20. № 1. P. 115. <https://doi.org/10.2298/CICEQ120531116P>
20. Barbaresso R.C., Rău I., Zgârian R.G. et al. // Chimie. 2014. V. 17. № 1. P. 12. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2013.07.007>
21. Thapa R., Sai K., Saha D. et al. // J. Mol. Liq. 2021. V. 334. P. 115998. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115998>
22. Bédouet L., Moine L., Servais E. et al. // Int. J. Pharm. 2016. V. 511. № 1. P. 253. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.06.128>
23. Fagerberg J.H., Tsinman O., Sun N. et al. // Mol. Pharm. 2010. V. 7. № 5. P. 1419. <https://doi.org/10.1021/mp100049m>
24. Zapała L., Kosińska-Pezda M., Byczyński Ł. et al. // Thermochim. Acta. 2021. V. 696. P. 178814. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2020.178814>
25. Vijayakumar G., Tamilarasan R., Dharmendirakumar M. // J. Mater. Environ. Sci. 2012. V. 3. P. 157.
26. Nguyen C., Do D.D. // Carbon. 2001. V. 39. P. 1327. [https://doi.org/10.1016/S0008-6223\(00\)00265-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6223(00)00265-7)
27. Fu J., Zhu J., Wang Z. et al. // J. Colloid Interface Sci. 2019. V. 542. P. 123. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.01.131>
28. Iervolino M., Quaglia F., Miro A. et al. // J. Drug. Del. Sci. Tech. 2004. V. 14. № 1. P. 93. [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(04\)50011-4](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(04)50011-4)
29. Takács-Novák K., Avdeef A., Box K.J. et al. // J. Pharm. Biomed. Anal. 1994. V. 12. P. 1369.