

Л. Ж. Жапарова<sup>1</sup>, Е. М. Тажбаев<sup>1</sup>, М. Ж. Буркеев<sup>1</sup>, А. Т. Кажмуратова<sup>1</sup>,  
Т. С. Жумагалиева<sup>1</sup>, Syed I. Ali<sup>2</sup>, Alex M. van Herk<sup>2</sup>

## СИНТЕЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИЭТИЛЦИАНОАКРИЛАТНЫХ НАНОЧАСТИЦ, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ СУЛЬФАТОМ КАПРЕОМИЦИНА

<sup>1</sup> Карагандинский государственный университет им. Е. А. Букетова, Караганда, Казахстан;  
<sup>2</sup> Эйндховенский технологический университет, Эйндховен, Нидерланды

Рассмотрены некоторые аспекты синтеза и характеристики полиэтилцианоакрилатных наночастиц, иммобилизованных противотуберкулезным препаратом Капреомицина сульфатом. Методом анионной полимеризации в эмульсии синтезированы наночастицы полиэтилцианоакрилата, содержащие Капреомицина сульфат. Найдены оптимальные условия для иммобилизации лекарства в полимерную матрицу. Установлено, что для повышения степени включения капреомицина сульфата в полиэтилцианоакрилатные наночастицы лекарство необходимо добавлять после начала полимеризации.

**Ключевые слова:** полиэтилцианоакрилат, доставка лекарств, медицинские полимеры, наночастицы, эмульсионная полимеризация.

Одной из главных проблем в медицине является лечение туберкулеза, в настоящее время одна треть земного населения инфицирована микобактериями туберкулеза. Получение полимерных носителей в виде наночастиц (НЧ) для транспорта противотуберкулезных препаратов позволило бы значительно повысить эффективность химиотерапии, применяемой в борьбе с микобактериями туберкулеза.

Большинство противотуберкулезных препаратов имеют обычно очень короткий период полураспада (например, *n*-аминосалициловая кислота — 45–60 мин, амикацин — 2–3 ч, стрептомицин — 5–6 ч и капреомицина сульфат — от 3 до 6 ч и т.д.), следовательно, они быстро выводятся из организма. Этим обуславливается введение таких лекарств в организм как минимум 2 раза в день. Повышения терапевтического эффекта противотуберкулезных препаратов можно добиться иммобилизацией их в наноструктуры на полимерной основе.

Одним из перспективных полимерных носителей является полиалкилцианоакрилаты, которые широко используются в качестве хирургических клеев для закрытия ран, а также коллоидных носителей для раз-

личных биологически активных веществ (лекарств, ДНК и т.д.) [1–4]. В связи с этим в качестве мономера для синтеза НЧ выбраны алкилцианоакрилаты, в частности, этилцианоакрилат.

Целью данной работы было исследование возможности иммобилизации противотуберкулезного препарата сульфата капреомицина (I) в полимерные НЧ на основе этилцианоакрилата (II).

### Экспериментальная часть

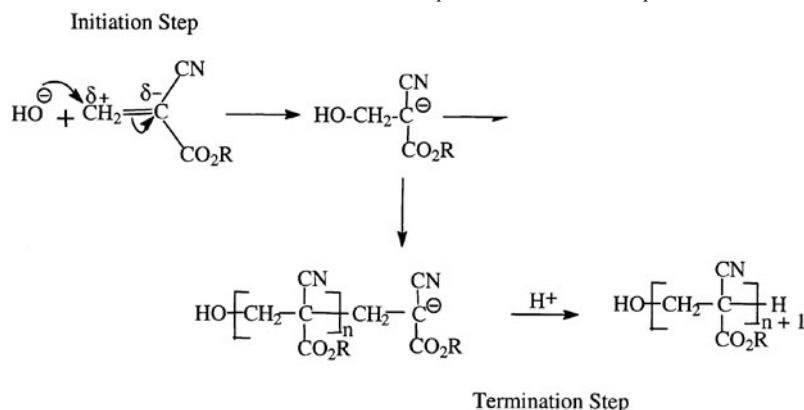
В работе использованы этилцианоакрилат и твин-80 (Sigma Aldrich, Германия).

### Получение полиэтилцианоакрилатных НЧ, иммобилизованных сульфатом капреомицина

Полиэтилцианоакрилатные наночастицы (ПЭЦА НЧ) получены методом эмульсионной полимеризации аналогично работам [2–4]. Суть метода заключается в том, что II (2 %) добавляют в предварительно подкисленную до pH 2–2,5 (с помощью 0,1 М HCl) воду, содержащую ПАВ (Твин 80). Полимеризацию проводят в течение 2 ч при комнатной температуре (25 °C) при постоянном перемешивании (800 об/мин). Полу-

### Схема

Механизм анионной полимеризации алкилцианоакрилата



ченные НЧ выделяют осаждением с помощью ультрацентрифугирования (20000 об/мин), затем промывают буферным раствором и сушат до постоянной массы.

ПЭЦА НЧ, иммобилизованные антибиотиком, приготовлены 2 способами:

**Метод 1.** I растворяли в предварительно подкисленной воде до добавления II.

**Метод 2.** I добавляли в полимеризационную среду после начала реакции в виде раствора II в подкисленной воде (после добавления II).

**Средний диаметр НЧ** измеряли методом фотонной корреляционной спектроскопии (ФКС) при 25 °С под углом 173° (Zetnano (Malvern Instruments)).

**Молекулярную массу** синтезированного полимера определяли на приборе SEC 3 (“Alliance”) WAT270886 Waters 2695, Waters 410 differential refractometer, Waters 486 UV-detector ( $\lambda = 254$  нм).

**Степень связывания I с ПЭЦА НЧ** определяли на УФ-спектрофотометре (Hewlett Packard) (UV-Vis-photodiode) при  $\lambda_{\text{max}} = 268$  нм после центрифугирования НЧ при 13500 об/мин в течение 1 ч при 25 °С.

### Результаты и их обсуждение

Известны 3 механизма полимеризации алкилцианоакрилатов — радикальный, анионный и цвиттер-ионный [2–4]. Наиболее распространенным является метод анионной полимеризации, так как проведение процесса не требует жестких условий и позволяет синтезировать НЧ с узким распределением частиц по размерам и удовлетворительными характеристиками [2–7]. В данной работе ПЭЦА НЧ получены полимеризацией в эмульсии при комнатной температуре, где в качестве слабого основания (инициатора) выступала вода. Механизм анионной полимеризации цианоакрилатов ранее описан в работе [5] и представлен на схеме.

Скорость полимеризации алкилцианоакрилатов зависит от pH среды: чем выше pH, тем быстрее протекает реакция. Для возможности контроля реакции полимеризации синтез ПЭЦА осуществляли в сильно-кислой среде: добавляли мономер в водную дисперсию, содержащую Твин 80 при комнатной температуре. Эмульсионную полимеризацию проводили в течение 2 ч, через определенный промежуток времени отбирая пробы из реакционной среды.

Физико-химические характеристики полученных НЧ ПЭЦА приведены в табл. 1.

Экспериментальные данные показывают, что активная фаза формирования частиц ПЭЦА заканчивается в течение 30 мин. По истечении этого срока размер частиц и молекулярная масса полимера изменяются незначительно, при этом стабилизируется дисперсность частиц (полидисперсность (ПД) = 0,175 – 0,132). Средняя молекулярная масса полимера составляет 2488.

Для более детального изучения морфологии полученных ПЭЦА НЧ нами сделаны снимки полимера на

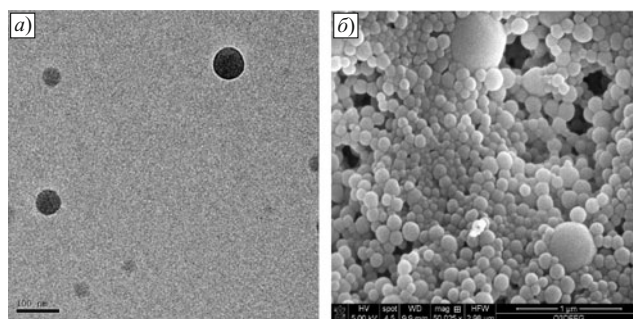


Рис. 1. ТЭМ (а) и СЭМ (б) снимки ПЭЦА НЧ без антибиотика

трансмиссионном (ТЭМ) и сканирующем электронных микроскопах (СЭМ) (рис. 1).

Из ТЭМ снимка НЧ ПЭЦА можно судить о том, что полученные частицы имеют правильную сферическую форму, размер их составляет менее 100 нм. Снимки, сделанные на СЭМ, показывают, что кроме частиц небольшого размера ( $\approx 100$  нм), в системе имеются агрегаты частиц, диаметром более 500 нм. Избежать образования таких частиц очень сложно, размер их не превышает 1000 нм, следовательно, в случае иммобилизации в них лекарственных препаратов, они также могут служить в качестве носителей, поскольку способны проникать в клетку посредством фагоцитоза [6].

Рассмотрев условие формирования частиц ПЭЦА, мы исследовали возможность иммобилизации полиэтилцианоакрилатных матриц лекарственным веществом. В качестве такового использовали противотуберкулезный препарат (I) — антибиотик, хорошо растворимый в воде и устойчивый в кислой среде.

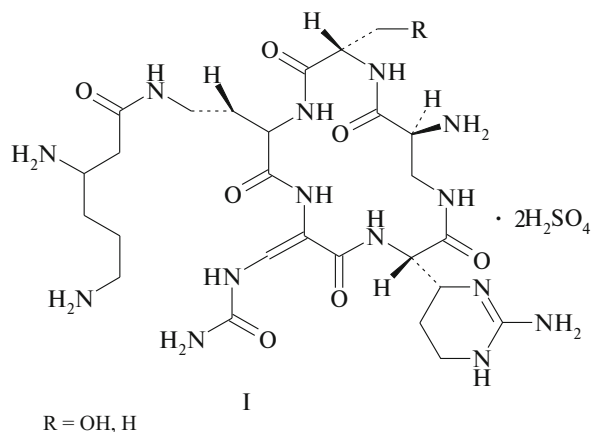


Таблица 1  
Динамика изменения физико-химических характеристик ПЭЦА НЧ

Время, мин	Диаметр частиц (d, нм)	Полидисперсность	$M_n$	$M_w/M_n$
1	317,5	0,576	2210	1,13
5	170,0	0,138	2436	1,14
10	150,8	0,136	2579	1,13
15	224,9	0,325	2517	1,13
20	160,2	0,175	2595	1,11
30	165,5	0,185	2511	1,13
45	161,6	0,189	2481	1,13
60	154,8	0,134	2591	1,13
90	159,0	0,166	2534	1,13
120	153,7	0,132	2428	1,13

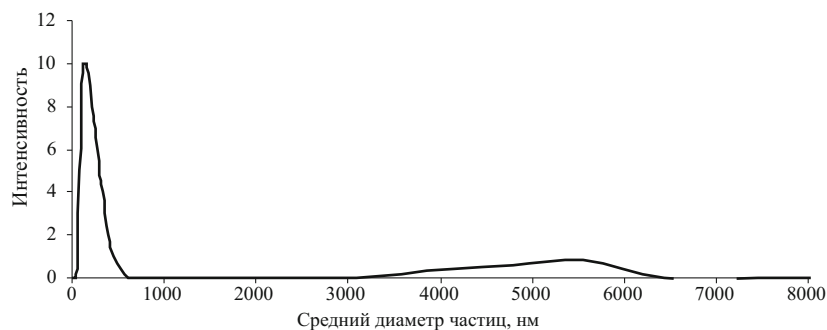


Рис. 2. Распределение ПЭЦА, иммобилизованного антибиотиком I

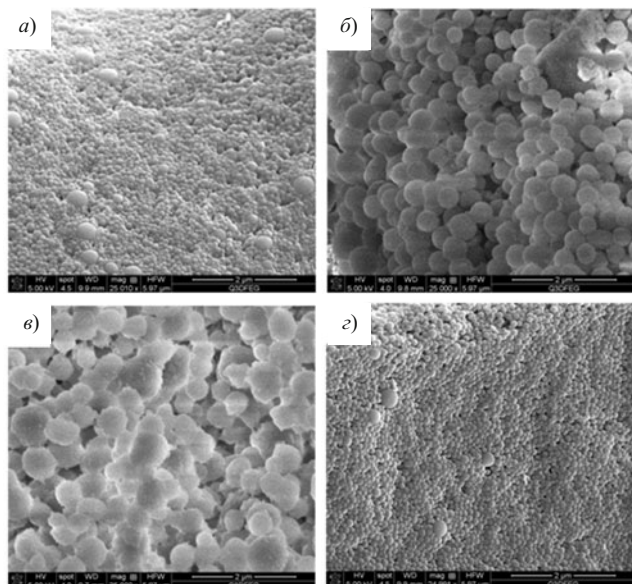


Рис. 3. СЭМ снимки полимера без лекарства (а) и ПЭЦА НЧ, иммобилизованных лекарством: I добавляли до начала реакции (б) и через 5 мин (в), 30 мин (г) после начала реакции.

Существуют несколько способов иммобилизации полимера лекарством. Одним из эффективных способов достижения более высокого связывания лекарства с полимером является добавление его непосредственно в реакционную смесь до начала полимеризации [7 – 11]. Поэтому первоначально использовали этот

способ иммобилизации I в полимерные НЧ. I растворяли в подкисленной воде, добавляли Твин 80, затем в систему по каплям вводили мономер. В результате эксперимента, помимо образования частиц нанометрического размера (400 – 700 нм), наблюдалось значительное количество агломератов (размерами более 4000 нм). Возможной причиной коагуляции может быть взаимодействие I с мономером, поскольку молекула I содержит несколько аминогрупп в своей структуре и может образовать ковалентные связи с ЭЦА. Это влияет на реакционную способность цианоакрилата и может сказаться на биологической активности лекарства.

С целью преодоления эффекта коагуляции рассмотрена возможность поэтапного введения лекарства в среду. В следующем эксперименте I добавляли через 5 мин после начала реакции. Полимерные частицы в этом случае имели средний размер несколько ниже, в интервале 300 – 400 нм, однако не удалось избежать образования крупных агломератов размерами от 3000 до 6500 нм, что недопустимо для решения поставленной в работе цели. Распределение ПЭЦА частиц по размерам приведено на рис. 2.

Также для более подробного анализа морфологии НЧ, содержащих лекарство, нами сделаны снимки на СЭМ (рис. 3).

На приведенных снимках видны сферические структуры частиц. В случае добавления лекарства до начала реакции заметно образование крупных агломератов (рис. 3, б).

На рис. 3, в можно заметить, что поверхность частиц несколько деформирована, возможно, из-за взаимодействия лекарства с мономером, что привело к образованию частиц с измененной морфологией.

С целью оптимизации условий синтеза ПЭЦА НЧ, иммобилизованных I, и для получения полимерного латекса с мономодальным распределением НЧ на следующем этапе лекарство добавляли в систему через 30 мин после начала реакции. Таким способом синтезированы полимерные НЧ со средним диаметром 132,3 нм. Результаты, полученные полимеризацией ЭЦА в присутствии I, приведены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что получение НЧ ПЭЦА введением лекарственного препарата I через 30 мин после начала реакции способствует стабилизации системы и оптимизации основных физико-химических характе-

Таблица 2

Физико-химические характеристики ПЭЦА НЧ, иммобилизованных I

Характеристика ПЭЦА НЧ	Добавление лекарства в полимеризационную среду		
	До начала реакции	После начала реакции	
		через 5 мин	через 30 мин
Средний диаметр НЧ, $d$ , нм	коагуляция	378,3	132,3
Полидисперсность	0,569	0,839	0,042
$M_n$	2323	2032	2012
$M_w/M_n$	1,14	1,27	1,12
Связывание, %	76,3	63,0	33,23

ристик конечных НЧ. Так, в результате полимеризации в присутствии I образуется система, приближенная к монодисперсной ( $PD = 0,042$ ). Добавление I в реакционную среду через 30 мин после начала полимеризации приводит к образованию частиц с меньшими размерами (132,3 нм) по сравнению с частицами полимера без лекарства (153,7 нм). Значения молекулярных масс ПЭЦА с лекарством и без него отличаются на 2–3 мономерные цепи, что не влияет на свойства полимера. Из СЭМ снимка (рис. 3, з) видно, что при этом сформировалась практически монодисперсная система с незначительным количеством частиц более крупного размера. Таким образом, указанные условия являются оптимальными.

Добавление I в реакционную среду через определенный период времени после начала полимеризации несколько снижает степень включения биологически активного вещества в полимерной матрице. Степень связывания активного вещества с ПЭЦА при введении I через 30 мин после начала реакции составляет более 30 %, что является достаточно высоким показателем и вполне удовлетворяет требованиям полимерных носителей [7–11].

## ЛИТЕРАТУРА

1. S. K. Soppimath, M. T. Aminabhavi, R. A. Kulkarni, et al., *J. Control. Rel.*, **70**, 1–20 (2001).
2. Ch. Vauthier, D. Labarre, G. Ponchel, *J. Drug Target*, **15**(10), 641–663 (2007).
3. Ch. Vauthier, C. Dubernet, E. Fattal, et al., *Advanced Drug Del. Rev.*, **55**, 519–548 (2003).
4. J. Kreuter, *Nanoparticles: Colloidal Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, New-York (1994).
5. A. Bootz, T. Russ, F. Gores, et al., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **60**, 391–399 (2005).
6. Й. Копечек, *Ж. всец. хим. общ-ва им. Д. И. Менделеева*, **30**(4), 372–377 (1985).
7. М.-Е. Page-Clisson, H. Pinto-Alphandary, M. Ourevitch, et al., *J. Control. Rel.*, **56**, 23–32 (1998).
8. М. Simeonova, R. Velichkova, G. Ivanova, et al., *Int. J. Pharm.*, **263**, 133–140 (2003).
9. М. Simeonova, G. Ivanova, V. Enchev, et al., *Acta Biomateria*, **5**, 2109–2121 (2009).
10. O. Cariline Sullivan, C. Birkinshaw, *Biomaterials*, **25**, 4375–4382 (2004).
11. Е. В. Шипуло, И. И. Любимов, О. О. Максименко и др., *Хим.-фарм. журн.*, **38**(3), 43–47 (2004).

Поступила 25.07.11

## SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLYETHYL CYANOACRYLATE NANOPARTICLES LOADED WITH CAPREOMYCIN SULFATE

L. Zh. Zhaparova<sup>1</sup>, Y. M. Tazhbayev<sup>1</sup>, M. Zh. Burkeev<sup>1</sup>, A. T. Kazhuratova<sup>1</sup>, T. S. Zhumagaliyeva<sup>1</sup>, Syed I. Ali<sup>2</sup>, Alex M. van Herk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Academician E. A. Buketov Karaganda State University, Karaganda, Kazakhstan

<sup>2</sup> Eindhoven University of Technology, Eindhoven, the Netherlands

Some aspects of the synthesis and characterization of polyethyl cyanoacrylate nanoparticles loaded with antituberculosis drug Capreomycin sulfate are considered in this work. Polyethyl cyanoacrylate nanoparticles containing Capreomycin sulfate have been synthesized using anionic polymerization in emulsion. Optimum conditions of immobilization of the drug into polymeric matrix have been found out. It was determined that to increase loading efficiency of the drug it has to be added into reaction medium after polymerization started.

**Key words:** polyethyl cyanoacrylate, drug delivery, medicinal polymers, nanoparticles, emulsion polymerization.