

Терапевтичний потенціал та механізми дії фосфоліпідних ліпосом

*Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ*

Широка зацікавленість сьогодні нанопродуктами, зокрема, нанобіотехнологічними продуктами у фармації, цілком зрозуміла. Ці продукти з широким спектром дії інтенсивно використовуються для діагностики, профілактики та лікування захворювань різної етіології. Створення штучних мембран – ліпосом – є одним з перспективних напрямів сучасної нанобіотехнології.

Ліпосоми не слід розглядати лише як інертні носії. Їхній фосфоліпідний склад визначає рідкокристалічні властивості та проникність мембран, що наразі розглядаються як панель управління внутрішньоклітинними процесами. Фосфоліпіди проявляють мембранотропну дію, впливаючи на структуру мембран. Ламелярна конфігурація фосфатидилхолінових міцел є ідеальним структурним елементом репарації біомембран. Також слід відзначити, що фосфоліпіди не викликають викривлення мембран і здатні нормалізувати текучість і мембранний транспорт. До того ж фосфатидилхолін – попередник синтезу ліпідних форм, здатних забезпечувати мембраностабілізуючу дію. Фосфатидилхолін як попередник синтезу діацилгліцеролу, сфінгомієліну, фосфатидної кислоти, лізофосфатидилхоліну, фосфатидилсерину, фактора активації тромбоцитів – важливих компонентів сигнальних систем – здатен впливати на сигнальну функцію мембран.

Завдяки антирадикальним властивостям, здатності інактивувати іони металів перемінної валентності фосфоліпіди проявляють радіопротекторні та генопротекторні властивості. Крім того, фосфатидилінозитол впливає на стабілізацію та регуляцію хроматину.

Гіполіпідемічна дія фосфоліпідів реалізується шляхом зниження експресії ацетил-СоА-карбоксилази та синтезу ЖК шляхом транскрипційної супресії

SREBP-1 сигналізації, пов'язаної з ростом адипоцитів і гомеостазом холестеролу, збільшення β-окиснення жирних кислот, супресії синтезу жирних кислот.

Поверхнево-активні властивості фосфоліпідів є підставою для їхнього використання при лікуванні легеневих захворювань.

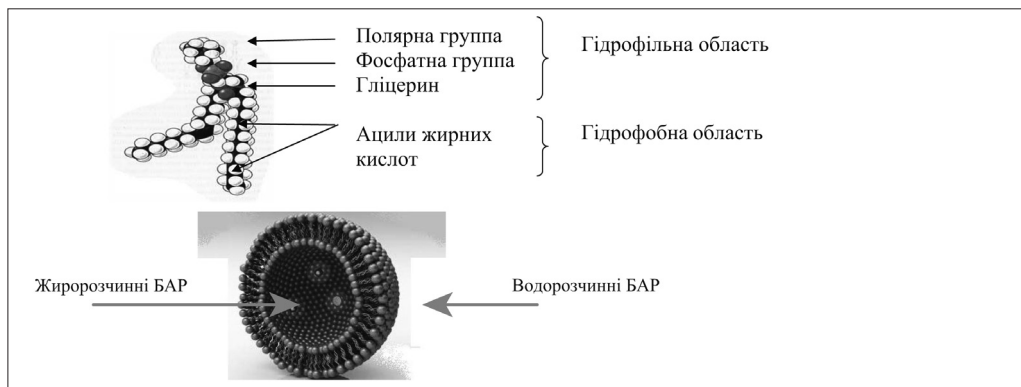
З огляду на зазначене, під керівництвом академіка НАМН України О. В. Стефанова було досліджено фармакологічні властивості ліпосомальної форми фосфатидилхоліну та створено на її основі препарат Ліпін.

Ліпін показаний до застосування при широкому переліку захворювань. У пульмонології він використовується для лікування гострої та хронічної легеневої недостатності різного генезу в дорослих та дітей, у тому числі новонароджених і недоношених. У гастроентерології Ліпін застосовують при гострих і хронічних активних гепатитах, хронічному некалькульозному холециститі, цирозі печінки, неспецифічному виразковому коліті. Також зазначений препарат показаний при інфаркті міокарда, нестабільній стенокардії, гострому та хронічному пієлонефриті, хронічному гломерулонефриті, діабетичній нефропатії в стадії ниркової недостатності, в акушерстві для лікування пізнього гестозу, внутрішньоутробної гіпоксії плода.

З огляду на амфіфільність ліпосом (наявність гідрофільної та гідрофобної області в молекулі фосфатидилхоліну), вони здатні виступати носіями як водо-, так і ліпідорозчинних фармацевтично активних інгредієнтів.

Доставка діючої речовини ліпосомами має ряд переваг завдяки:

- спорідненості з клітинами та тканинами;
- здатності накопичуватися в ішемізованих тканинах;
- доставці до мішеней гідрофільних та



- гідрофобних лікарських засобів;
- контрольованому вивільненню діючої речовини;
 - пролонгації дії;
 - зменшенню токсичності.

Отже, ліпосоми є корисними для забезпечення biodostupnosti діючої речовини, яка має низький рівень розчинності, велику молекулярну масу, є нестабільною та має короткий термін терапевтичної дії.

Історія розробки ліпосомальної системи доставки активних фармацевтичних інгредієнтів бере початок із 1964 року, коли Bangham and Horne вперше отримали багаточислові везикули. Наступного року Bangham et al., (1965 p.) повідо-

мили про створення модельної біомембранної системи на основі структур везикул, що має іонний градієнт. Уперше використав ліпосоми для доставки біоактивної субстанції Gregoriadis i et al. (1971 p.).

У 1990 році вийшов на ринок Європи перший ін'єкційний ліпосомальний препарат амфотерицин В (AmBisome®). FDA затвердила перший ліпосомальний протипухлинний засіб (Doxil®), який також є першим нанопрепаратом, впровадженим у США.

У таблиці 1 наведено перелік природних фосфоліпідів, що використовуються для створення ліпосомальних лікарських засобів.

Таблиця 1

Природні фосфоліпіди та їхні похідні, що використовуються в ліпосомальних препаратах

Препарат	Фосфоліпіди	Лікарський засіб	Рік впровадження
Ambisome®	Гідрогенізований соєвий фосфатидилхолін та дистероїлфосфатидилгліцерол	Amphotericin B	1990 (Europe) 1997 (USA), 2000
Doxil®	Гідрогенізований соєвий фосфатидилхолін та дистероїлфосфатидилгліцерол-PEG2000	Doxorubicin	1995, 1999, 2003 (Europe, Canada) 2007)
DaunoXome®	Дистеарилфосфатидилхолін	Daunorubicin	1996 (Europe) 1996 (USA)
Myocet™	Ячний фосфатидилхолін	Doxorubicin	2000 (Europe)
DepoDur™	Діолеїлфосфатидилхолін та дипальмітоїлфосфатидилгліцерол	Morphine sulfate	2004
DepoCyt®	Діолеїлфосфатидилхолін та дипальмітоїлфосфатидил-гліцерол	Cytosine Arabinoside	1999
Lipo-Dox®	Дистеарилфосфатидилхолін та дистероїлфосфатидилгліцерол-PEG2000	Doxorubicin	2001 (Taiwan)
Marqibo®	Ячний сфігномієлін	Vincristine	2012 (USA)

За останні 50 років у плані розробки ліпосомальних препаратів слід зазначити ряд важливих технічних досягнень, до яких належать:

- направлена доставка ліків;
- екструзія для отримання однорідних розмірів ліпосом;
- регульоване вивільнення активних фармацевтичних інгредієнтів;
- пролонгована присутність у кровоносному руслі завдяки пегільованим ліпосомам;
- створення ліпосом, що містять полімери нуклеїнових кислот;
- розробка ліпосомальних форм лікарських засобів з лігандами до мішеней.

Це дозволило створити високоєфективні лікарські засоби за кордоном (табл. 2) та в Україні (табл. 3), що мають різні показання до медичного застосування.

Ліпофлакон. Ліпофлакон, ліофілізат для емульсії для ін'єкцій у флаконах № 1, що містить лецитин-стандарту у перерахунку на лецитин 550 мг та кверцетин у перерахунку на суху речовину 15 мг. Механізм фармакологічної дії Ліпофлакону визначається його складовими. Дані щодо ефективності фосфатидилхоліну та його ліпосомальної форми наведено вище. Що стосується кверцетину, то відомо, що цей біофлавоноїд є сильним антиоксидантом,

Таблиця 2

Лікарські засоби в ліпосомальній формі

Назва	Активна субстанція	Показання до застосування	Виробник
Abelcet	amphotericin B	Грибкова інфекція	Enzon
Ambisome®	amphotericin B	Грибкова та протозойна інфекція	Gilead Sciences
Depocyt®	cytarabine	Злоякісний лімфоматозний менінгіт	Pacira
DaunoXome®	daunorubicin	ВІЛ-зумовлена саркома Каросі	Gilead Sciences
Myocet®	doxorubicin	З циклофосфамідом при метастатичному раку легень	Zeneus
Epxal	IRIV vaccine	Гепатит А	Crucell
Inflexal V	IRIV vaccine	Грип	Berna Biotech
DepoDur®	morphine	Післяопераційна аналгезія	SkyePharma, Endo
Visudyne	verteporfin	Вікова дегенерація макули, міопія	QLT, Novartis
Curosurf	liposomeproteins SP-B і SP-C	Окулярний гістоплазмоз	Chiesi Farmaceutici, S.p.A.
Doxil®/ Caelyx	liposome-PEG doxorubicin	Сурфактант легень при синдромі дистресу дихання	Orto Biotech, Shering Plough
Estrasorb	estradiol	Терапія менопаузи	Novavax
Marqibo®	vincristine	Гостра лімфобластомна лейкемія, меланома	Spectrum Pharmaceuticals
Lipo-Dox®	liposome-PEG doxorubicin	Саркома Каросі, метастатичний рак легень, метастатичний рак яєчників, множинна меланома	TTY BIOPHARM
Lipopheron®	interferon alpha-2b	Імуностимулятор	Jadran

Вітчизняні ліпосомальні препарати направленої дії

Препарат	Виробник	Активна фармацевтична субстанція	Основна фармакологічна дія
Ліпін	ЗАТ «Біолік»	Фосфатидилхолін	Антигіпоксична Антиоксидантна Мембранопротекторна
Ліпофла- вон	ЗАТ «Біолік»	Фосфатидилхолін, кверцетин	Кардіопротекторна Протиопухлинна (препарат супроводу) Офтальмологічна Антиоксидантна
Ліюлів	ЗАТ «Біолік»	Фосфатидилхолін, антраль	Гепатопротекторна
Ліподокс	ЗАТ «Біолік»	Фосфатидилхолін, доксорубіцину гідрохлорид	Протиопухлинна

який переважає α -токоферол. Антиоксидантні властивості кверцетину зумовлені наявністю в його молекулі 3 центрів. Найвираженішу антиоксидантну активність проявляє перший центр за рахунок наявності двох дипольних гідроксильних груп, які легко окиснюються активним киснем і вільними радикалами. Унаслідок окиснення кверцетину утворюється менш реактивний радикал. Два інші центри реалізують антиоксидантну дію за рахунок комплексоутворення з дво- і тривалентними металами (Fe^{3+} , Cu^{2+}), що входять до складу каталітичних центрів окисно-відновних ферментів, і азотовмісними еко4ендотоксинами. Зокрема, кверцетин утворює хелати заліза. Також він здатний інгібувати ксантиноксидазу та зменшувати оксидативні uszkodження.

Відомо, що в основі патологічних процесів у міокарді лежать порушення цілісності мембран кардіоміоцитів, активація фосфоліпази та оксигеназ, які стимулюють утворення вільних радикалів, провокуючи аномальне ПОЛ. Одночасно з ініціюванням ПОЛ спостерігається активація ліпоксигеназ, які підсилюють утворення лейкотрієнів. Останні, у свою чергу, викликають коронарний спазм, тахіаритмію, збільшують агрегацію тромбоцитів, запалення кардіоміоцитів. Доведено, що біофлавоноїд кверцетин є перспективним інгібітором ліпоксигеназ. В основі його протизапальної ефективнос-

ті лежить інгібіторна дія щодо 5-ліпоксигенази, експресії індукцибельної NO синтази і NF κ B, забезпечення стабілізації мембран тучних клітин та інгібування дегрануляції базофілів, зниження активності комплементу, а отже зменшення адгезії клітин запалення з ендотелієм. Крім того, ангиопротекторні властивості даного біофлавоноїду реалізуються завдяки зменшенню іммобілізації лейкоцитів із стінкою ендотелію в ході ішемії та реперфузії, індукції активності NO синтази, інгібуванню каталітичної активності тромбіну в реакції зв'язування фібриногену, гіполіпідемічній дії.

Кверцетин виявляє також протиопухлинну дію, інгібуючи проліферацію клітин шляхом взаємодії з білками сигнального шляху онтогенезу, індукуючи апоптоз і блокуючи клітинний цикл ракових клітин.

За даними клінічних досліджень у хворих на гострий коронарний синдром з елевацією сегмента ST під час проведення успішної реваскуляції міокарда з використанням інгібітора 5-ліпоксигенази – корвітину (розчинна форма кверцетину) – у ранні терміни захворювання зменшується поширення зони некрозу (у пацієнтів з гострим інфарктом міокарда з відкритою інфарктзалежною вінцевою артерією). Також показано, що раннє призначення кверцетину сприяло зменшенню дисфункції лівого шлуночка міокарда, покращанню скоротливої здатності міокарда.

Ex vivo також виявлено інгібуючу дію кверцетину на експресію циклооксигенази-2, пригнічення ним утворення тромбоксану В2 і гальмування агрегації тромбоцитів.

У таблиці 4 наведено дані щодо ефективності кверцетину за гострого коронарного синдрому.

Проте фактором, що лімітує застосування кверцетину в медичній практиці, є низька біодоступність, пов'язана з його гідрофобними властивостями. Спроба поєднати властивості кверцетину та фосфатидилхоліну в одному препараті шляхом включення першого в унікальну систему доставки – ліпосому – призвела до створення в Україні в Інституті фармакології та токсикології НАМН України нового лікарського засобу – ліпосомальної форми кверцетину, Ліпофлакону. Даний препарат показаний до застосування у кардіології при гострому інфаркті міокарда без зубця Q, нестабільній і стабільній стенокардії, міокардиті, як препарат супроводу для запобігання токсичних уражень міокарда при проведенні циклів поліхіміотерапії раку молочної залози. Препарат створено з урахуванням механізмів патологічних процесів у міокарді, з одного боку, і фармакологічних ефектів фосфатидилхоліну та кверцетину.

З огляду на досягнення високої біодоступності, синергізму ефектів кверцетину й ліпосомальної форми фосфатидилхоліну, що супроводжується посиленням антиоксидантної, цитопротекторної, імуномодулюючої та ендотеліпротекторної дії, даному препарату належить особливе місце. Включення кверцетину до ліпосом дозволило не тільки суттєво збільшити його біодоступність, але за даними доклінічних досліджень розширило можливості застосування даного препарату за різних патологічних станів, для корекції яких необхідний засіб з багатовекторною фармакодинамікою: антиоксидантною, антирадикальною, антигіпоксичною, протиішемічною та мембраностабілізуючою дією (табл. 5).

За даними клінічних випробувань застосування Ліпофлакону протягом 6 місяців на фоні тромболітичної терапії у хворих на гострий інфаркт міокарда позитивно вплинуло на систолічну й діастолічну функції лівого шлуночка та швидкість його ремоделювання, функцію мітрального клапану, сприяло прогресивному зниженню ступеня мітральної регургітації, зменшенню жорсткості серцевого м'яза, а також розмірів лівого передсердя, що знижує ризик виникнення загрозливих для життя порушень ритму та раптової смерті.

У хворих на нестабільну стенокардію застосування Ліпофлакону на тлі базової терапії сприяло покращанню серцевого ритму та інших показників:

- пришвидшувалося зникнення клінічних проявів стенокардії (больовий та астено-вегетативний синдроми);
- знижувалася активність симпатичної ланки вегетативної нервової системи;

– пришвидшувалося зникнення клінічних проявів стенокардії (больовий та астено-вегетативний синдроми);

- знижувалася активність симпатичної ланки вегетативної нервової системи;

Таблиця 4

Ефекти застосування кверцетину за гострого коронарного синдрому

Репаративна дія (нормалізація трофіки тканин) Протизапальна дія (зниження синтезу лейкотрієнів)	→	Зменшення розмірів зони некрозу
Антиоксидантна й антигіпоксична дії (зниження активності процесів ПОЛ, стабілізація мембран)	→	Підвищення резистентності мембран кардіоміоцитів до ішемії, зменшення числа ускладнень, пов'язаних з реперфузією міокарда
Ангіопротекторна дія (нормалізація підвищеної судинно-тканинної проникності)	→	Покращання внутрішньосерцевої гемодинаміки
Протиаритмічна дія	→	Підвищення електричної стабільності серця

Фармакологічна дія Ліпофлакону в експерименті

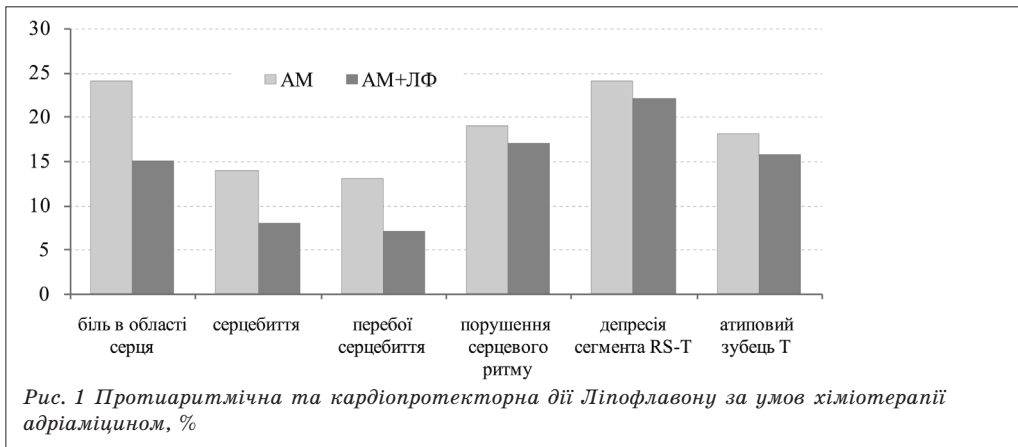
Активність	Модель	Кількість публікацій (роки)
Кардіопротекторна	Доксорубіцинова кардіоміопатія Адреналіновий міокардит Іздринний міокардит Хронічна серцева недостатність	12 (2003–2009)
Ангіопротекторна	Стрептозотоциновий діабет (судинні дисфункції <i>in vitro</i>) Опромінення в дозі 6 Гр (посляпроменева гіпертензія)	3 (2006–2012)
Противпроменева	Гостре променеве ураження мишей	4 (2006–2009)
Церебро-протекторна	Геморагічний інсульт Черепномозкова травма	4 (2005–2010)
Нейропротекторна	Травматичне пошкодження сідничного нерва	3 (2010)
Нефропротекторна	Гостра токсична нефропатія	6 (2008–2011)
Гепатопротекторна	Експериментальні гепатити різної етіології	7 (2004–2007)
Противиразкова	Етанол-преднізолонова виразка шлунка Аспіринова виразка шлунка	2 (2007, 2008)
Протиопікова	Термічний опік шкіри 2–3А ступеня	1 2007

- нормалізувався парасимпатичний баланс та показники ПОЛ і системи антиоксидантного захисту;
- нормалізувався рівень Т- і В-лімфоцитів, активізувалися супресорні регуляторні механізми, відбувалося пригнічення гуморальної ланки імунітету, що сприяло усуненню розбалансованості й аутоагресії імунного гомеостазу;
- нормалізувався рівень С-реактивного білка та ліпідного спектра крові;
- покращувався суб'єктивний стан пацієнтів та об'єктивні показники роботи серцево-судинної системи;
- збільшувалася толерантність до фізичного навантаження.

Дані щодо кардіопротекторної дії Ліпофлакону за умов застосування як препарату супроводу за протипухлинної фармакотерапії раку молочної залози наведено на рисунку 1.

Ще однією лікарською формою є Ліпофлакон для застосування в офтальмології – ліофілізат для очних крапель.

Препарат випускають у вигляді порошку ліофілізованого для приготування очних крапель у флаконах. Препарат дозволений до клінічного застосування в офтальмологічній практиці (наказ МОЗ України від 7 квітня 2005 р. № 156) і зареєстрований в Україні (реєстраційне посвідчення № UA/3053/01/01). Даний препарат застосовується при лікуванні хворих на травматичні кератити, при цьому прискорюється термін епітелізації, зменшується тривалість збереження больових відчуттів. Застосування Ліпофлакону сприяє швидкій регресії запального процесу при комплексному лікуванні хворих після екстракції катаракти з наступною імплантацією. Виявлено ефективність препарату в комплексному лікуванні дегенеративних захворювань сітківки, наприклад, непроліферативної діабетичної ретинопатії, що нерідко призводить до значного зниження зору, сліпоти та інвалідності. У патогенезі діабетичної ретинопатії важливу роль відіграють метабо-



лічні та гемодинамічні порушення. Метаболічні аномалії призводять до ушкодження мембран, порушення проникності клітин, ішемії сітківки. При цьому підвищується в'язкість крові, ущільнюється базальна мембрана судин сітківки, руйнуються перичити та утворюються капілярні мікроаневризми. Погіршення реологічних властивостей крові призводить до порушення капілярного кровотоку, підвищення кров'яного тиску в капілярах сітківки. Елементи крові з патологічно змінених судин потрапляють у сітківку. У структурно зміненій ішемізованій сітківці утворюється велика кількість цитокінів і факторів росту, створюються сприятливі умови для неоваскуляризації, розвиваються клінічні ознаки діабетичної ретинопатії. У комплексному лікуванні хворих на діабетичну ретинопатію Ліпофла-вон сприяє розширенню порогової чутливості сітківки, зменшенню набряку сітківки та показника порога електричної чутливості за фосфеном, збільшенню показника критичної частоти зникнення миготіння за фосфеном, корекції вмісту прозапальних (IL-1 β і TNF- α) і протизапального (IL-4) цитокінів.

Використання препарату Ліпофла-вон (внутрішньовенно 10 ін'єкцій на тлі інсталяції цього самого препарату в кон'юнктивальну порожнину по 1 краплі 5 разів на день протягом двох місяців) паралельно з базисною терапією (віта-мін Е по 0,3 г на добу) дозволило досягти достовірного збільшення гостроти зору порівняно з базисною терапією, сприяло підвищенню рівня антиоксидантного статусу організму за активністю глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, супероксиддисмутази, каталази та рівнем малонового діальдегіду.

Натепер хвороби рогівки, зокрема травматичного генезу, є однією з основних причин звертання хворих за офтальмологічною допомогою. Проаналізовано вплив застосування Ліпофла-вону додатково до базисної терапії на показники місцевого імунітету ока при лікуванні хворих на травматичні ерозії рогівки. За умов додаткового застосування Ліпофла-вону відмічено підвищення рівня секреторного імуноглобуліну А, лізоциму, а також зниження вираженості автоімунних й імунокомплексних реакцій, тоді як у групі порівняння (базисна терапія)

Таблиця 6

Рівень цитокінів сльози у хворих на травматичну ерозію рогівки до та після лікування

Імунологічний показник	Базисна терапія + Ліпофла-вон (n = 80)		Базисна терапія (n = 40)	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
TNF- α , пг/мл	204,0 \pm 2,2***	109,0 \pm 2,1	202,0 \pm 2,3***	131,0 \pm 2,5*
IL-1 β , пг/мл	187,0 \pm 2,0***	101,0 \pm 1,6	189,0 \pm 2,1***	124,0 \pm 2,4***
IL-4, пг/мл	26**	47,3**	27*	30

Примітка. Достовірність відмінностей показника по відношенню до норми: * – P < 0,05; ** – P < 0,001; *** – P < 0,001.

наприкінці лікування зберігалися підвищеними показники циркулюючих імунних комплексів, слабка динаміка рівнів імуноглобуліну А і лізоциму, висока активність автоімунних реакцій (табл. 6).

В основній групі хворих за інсталяції додатково Ліпофлакону в період реконвалесценції (через 1 тиждень) цитокіновий профіль сльози нормалізувався: рівень прозапальних цитокінів сльози сягав показників норми, а протизапального – значно підвищувався.

У пацієнтів, яким додатково до традиційної терапії призначали Ліпофлакон, швидкість епітелізації за флюоресцеїновим тестом підвищувалася в середньому в 2,1 разу, час реконвалесценції пацієнтів наступав на 2 дні раніше, ніж у групі порівняння. При цьому зменшувалася тривалість збереження суб'єктивних скарг і об'єктивних ознак запалення відносно групи порівняння.

Препарат Ліолів-Біолік®-Ліофілізат для емульсії для ін'єкцій. Склад: діючі речовини: 1 флакон (пляшка) містить лецитин-стандарт (у перерахуванні на лецитин) – 320 мг; антраль (у перерахуванні на безводну речовину) – 4,2 мг; допоміжна речовина: лактоза моногідрат.

Ліолів-Біолік® належить до групи гепатопротекторних препаратів. Показаний для лікування гострих та хронічних гепатитів різної етіології (у тому числі вірусної), доброякісної гіпербілірубінемії та цирозу печінки в дорослих і дітей віком від 12 років. При курсовому застосуванні препарат виявляє виражені детоксикаційні властивості, зменшує прояви цитолітичного, мезенхімально-запального та холестатичного синдромів; нормалізує показники протеїнограми, вмісту білірубіну, холестерину, трансаміназ і лужної фосфатази в

крові, протромбіновий індекс. Зменшує інтенсивність астеновегетативних порушень і диспептичних проявів. За результатами доклінічних досліджень встановлено, що Ліолів-Біолік® сприяє послабленню наслідків дії гепатотоксинів, активації репаративних процесів у гепатоцитах та нормалізації показників структурно-функціонального стану печінки в дорослих, молодих та нестатевозрілих тварин. Препарат інгібує процеси перекисного окиснення ліпідів у крові та тканинах, підтримує активність антиоксидантних систем організму, виконує функцію неспецифічного детоксиканту, проявляє мембранопротекторний і протизапальний ефект. Ліолів-Біолік® не порушує функціональну діяльність органів та систем організму, нетоксичний, не має кумулятивних властивостей.

На завершення хотілось би відмітити, що Україна є однією з небагатьох країн, де активно розробляють нанобіотехнології у фармації. Протягом 30 років даний напрям розвивається в Україні завдяки співдружності фахівців у галузі хімії ліпідів, фармакології, технології (академік НАМН України О. В. Стефанов зі співробітниками, д.х.н. Г. С. Григор'єва, к.х.н. Н. Ф. Конахович; академік РАМН В. І. Швець зі співробітниками; фахівці ЗАТ «Біолік» к.ф.н. Г. А. Сенніков, д.ф.н. Ю. М. Краснопольський). Це дозволило Україні вийти на світовий рівень у питанні розробки та промислового виробництва ліпосомальних препаратів різної спрямованості. Сьогодні інші вітчизняні фармацевтичні підприємства мають реальні плани з розробки та впровадження ліпосомальних лікарських засобів різної дії.