

Горчакова Н.О.,
Макарчук С.Д.,
Чекман І.С.

ЗАЛЕЖНІСТЬ ФАРМАКОЛОГІЧНОГО ЕФЕКТУ ВІД НАВАНТАЖЕННЯ НАНОСФЕР СО-ПОЛІМЕРОМ МОЛОЧНО-ГЛІКОЛЕВОЇ КИСЛОТИ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця м. Київ

Резюме: Система доставки ліків (СДЛ) на основі полімеру, в якій входить молочно-гліколева кислота (ПМГК) використовується з метою надходження біологічно активних сполук протягом тривалого періоду часу. Дослідники звертають увагу на нетоксичність метаболітів, при перетворенні полімеру СДЛ. У цьому дослідженні визначали ефективність наносфер ПМГК залежно від їх діаметру.

Ключові слова: полі (молочно-гліколева) кислота ПМГК, дексаметазон, мікросфери, наносфери, остеобласти.

Вступ

Гліколева кислота (гідроксиоцтова кислота, гідроксиетанова кислота) – органічна сполука з хімічною формулою $C_2H_4O_3$, найпростіша гідроксикислота, яка існує у вигляді безбарвних кристалів з запахом паленого цукру. У природі міститься у винограді, цукровому буряку, цукровому очереті. Добре розчиняється в наступних рідинах: воді, спирті, ефірі.

Молочна кислота ($CH_3CH(OH)COOH$) – безкольорові кристали, легко розчинні у воді, існує у вигляді двох оптично-активних форм (+) та (–) (тпл $25 - 26^\circ C$), а також у вигляді рацемату (t пл $18^\circ C$). Рацематія (+) та (–) форм відбувається при $130 - 150^\circ C$. Молочна кислота може утворювати солі – лактати та ефіри, дуже поширена у природі, внаслідок того, що є кінцевим продуктом молочнокислого бродіння, яке проходить при прокисанні цукровмісних речовин (молоко, сік рослин тощо).

Полімер молочно-гліколевої кислоти (ПМГК) застосовують для приготування та збереження харчових продуктів, медикаментів, апаратури в зв'язку з його біосумісністю і швидким перетворенням. ПМГК синтезують за допомогою спільної полімеризації двох різних мономерів, циклічних димерів (1,4-діоксан-2,5-діоном) молочної та гліколевої кислоти. Загальні каталізатори, що використовуються у розробці цього полімеру включають різні сполуки олова або алюмінію. Полімеризація послідовних мономерних одиниць (гліколевої або молочної кислоти), які пов'язані один з одним у ПМГК, відбувається за допомогою ефірного зв'язку, що дозволяє забезпечити лінійне утворення аліфатичного полієфіру [16].

Час, необхідний для деградації ПМГК, залежить від кількості мономерів, що використовуються у виробництві: чим вищий вміст кислоти гліколієвої, тим менше часу необхідно для деградації сполуки. Винятком з цього правила є сополімер з співвідношенням 50:50 мономерів, який володіє більш швидкою деградацією (близько двох місяців). Крім того, полімери, що з'єднуються з ефірами, мають більшу активність напіврозпаду.

Полімери використовують для створення принципово нових нанопрепаратів та їх лікарських форм з метою профілактики, діагностики і лікування різних захворювань. Особливо часто застосовують гідрогелі (тривимірні полімерна матриця) у регулюванні доставки лікарських засобів [1]. Для ПМГК як системи доставки ліків або біоматеріалу характерна незначна токсичність, що дозволяє використовувати систему ПМГК у комплексі з мікро-і наночастинками не тільки у якості переносника ліків, але також при виробництві різних біомедичних пристроїв, таких як: нитки для накладання швів, імплантанти, протези [13, 18].

ПМГК вивчалася протягом багатьох років в якості матеріалу доставки лікарських речовин, головним чином, за рахунок своєї хімічної біосумісності [11, 12], здатності до перетворення в біологічному середовищі і нетоксичності метаболітів [4]. Ці фактори можуть бути важливими також при виробництві приладів з металевими складовими частинами імплантів. Мікро- або наносферичні матриці для медикаментозної доставки медикаментів є переважним вибором у регенеративній медицині. Структура і склад металевого біоматеріалу при цьому зберігаються.

Час вивільнення лікарського засобу із системи з полімером може бути продовжений на достатньо тривалий термін порівняно з терміном вивільненням лікарського засобу при застосуванні плівок, тому важливою є оцінка складових компонентів системи ПМГК. Спочатку були розроблені мікросфери ПМГК за допомогою емульсії, що утворювалася змішуванням олії у водному розчиннику методом випаровування, при цьому препарат був рівномірно розподілений по всіх розчинних ПМГК матрицях та емульсіях. Органічний розчинник випаровувався з матриці твердих мікрочастинок. Біоактивні речовини можуть бути розчинені в ПМГК, якщо вони є гідрофобними [3] або виготовленими в якості подвійної емульсії чи матриці [9]. Тому даний полімер мав гідрофільні властивості [2].

Слід зазначити, молекулярна маса полімеру також впливає на швидкість вивільнення лікарської речовини [8]. Швидкість деградації пропорційна частці одного з мономерів в полімері [12], а швидкість дифузії через полімерну матрицю обернено пропорційна молекулярній фазі полімеру ПМГК.

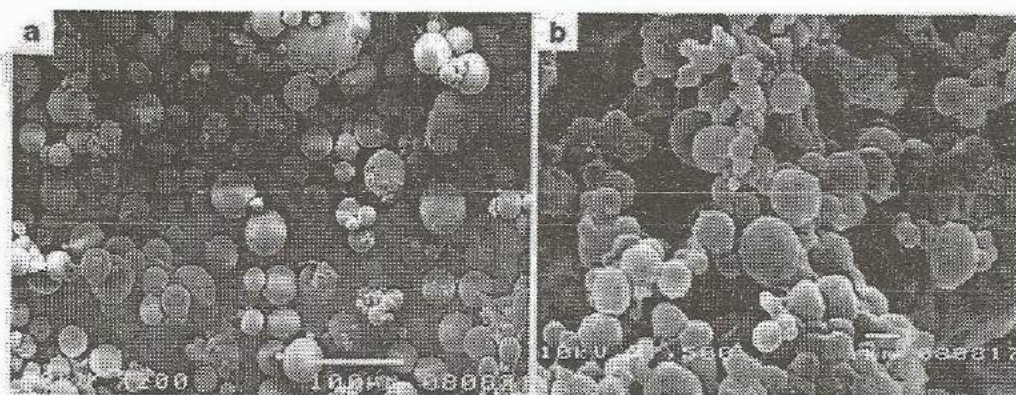
Мікросфери, як правило, використовуються для зниження запального процесу на шкірі поблизу введення глюкози [17], контрольованого вивільнення інсуліну [15] або доставки білка для росту кісток [10]. Найбільш ефективним діапазоном розмірів частинок мікросфер вважали раніше 10–200 мкм [12]. Мікросфери розміром менше 10 мкм сприяли не тільки дифузії, але були здатні фагоцитуватися імунними факторами. Це мало подвійну незручність для імунних клітин, що самі могли транспортувати мікросфери, останні не завжди досягали бажаного місця і підлягали фагоцитозу. Їх швидке розчинення всередині везикул викликає стрімке вивільнення речовини і перешкоджає ефекту уповільненого звільнення. Використання мікросфер більше 200 мкм впливало на тканинні структури шляхом потенційного підвищення імунної відповіді або навіть розвитку запалення. Крім того, в зв'язку зі збільшеним радіусом мікросфер зменшувалася площа поверхні, змінювалася швидкість проникнення води і відбувалася деградація матриці, скорочувалася максимально можлива швидкість вивільнення лікарських засобів. В зв'язку з вищезазначеним, вирішили порівняти кінетику і ефективність системи мікро- і наносфер ПМГК, які можна застосовувати в ор-

топедії. При цьому в системі доставки лікарських засобів застосовували титан, який не відторгується тканинами стовбурових клітин.

Серед препаратів для дослідження був вибраний гідрофобний протизапальний кортикостероїд дексаметазон, що широко застосовують для лікування захворювань, які супроводжуються запальними реакціями [17], а також диференціацією остеобластів [14]. Для створення сфер ПМГК використовували дві різні схеми: – в одному випадку – метод випаровування [3], коли 400 мг ПМГК і 80 мг дексаметазону були спільно розчинені в 40 мл дихлорметану. Надалі додавали полівініловий спирт (ПВС, міжнародна назва PVA або PVAL) центрифугували спочатку при 1250 об/хв. протягом 30 хв, а далі – при 60 об/хв. протягом 18 год для того, щоб органічні розчинники могли випаруватися і укріпити сфери. Сфери виділяють з розчину фільтруванням і промиванням, щоб видалити надлишки полівінілового спирту і дексаметазону. Утворену суспензію сушать протягом 24 год, отримуючи дрібний білий порошок.

Для синтезу полімеру використовувують і інший метод. Близько 500 мг ПМГК і 100 мг дексаметазону розчиняють в 10 мл дихлорметану та додають 60 мл полівінілового спирту. Суміш центрифугують зі швидкістю 13500 об/хв протягом 6 хв. Емульсію обробляють ультразвуком при 20 Вт протягом 5 хвилин. Далі суміш підлягає центрифугуванню при 60 об / хв протягом 15 хв. Супернатант зливають, в результаті промивань залишок ресуспендують і центрифугують ще раз, щоб видалити надлишки полівінілового спирту і часток дексаметазону. Отриману суспензію ліофілізують (спосіб м'якого сушіння речовин). За допомогою скануючої електронної мікроскопії і розмірного аналізу роблять фотографії кожного типу сфер (малюнок 1 а, б) [4]. Розподіл розмірів для великих сфер був досить широким, в той час як маленькі кульки були більш агломерованими і могли злипатися. Для приготування малих сфер виявився більш зручним другий метод.

В залежності від розміру нано- або мікросфер змінюється швидкість вивільнення дексаметазону [6, 7]. Більш швидко вивільнюється дексаметазон з зовнішніх шарів поверхні частинок нанорозмірів. Так, з наносфер дексаметазон вивільнюється вже протягом першої години після їх імплантації, і тому краще стимулює диференціацію остеобластів, але для оптимальної клітинної відповіді важливо підтриму-



Мал. 1. Морфологія сфер ПЛГА [4,17]

вати адекватну концентрацію дексаметазону протягом 28 днів. Разом з тим, вирішальними є перші кілька годин або перші дні, коли відбувається головна відповідь на препарат з боку імунної системи. Дослідники підбирають оптимальні дози глюкокортикоїду в наносферах, що дозволяє їх близькому розташуванню від біоімплантів.[17] Мікросфери, на відміну від наносфер, швидше видаляються з поверхні імплантів і можуть швидше руйнуватися імунною системою. Тому для прояву ефективності цих наносфер необхідна більша тривалість впливу. Для виготовлення наносфер потрібна менша кількість полімерної матриці, з них більш швидко вивільнюється препарат, завантажуються більша площа поверхні для

контакту з імплантом. Разом з тим, існує точка зору, що більш раціональним є комбінована система мікро- і наносфер, що будуть іммобілізовані з препаратом і поміщені на поверхні імпланту з метою диференціації або пригнічення імунітету на поверхні імпланту.

Таким чином, ПМГК може бути широко використаним для діагностики стану остеобластів, процесів їх диференціації а також з метою імунносупресії на поверхні імпланту. Перспективним є створення систем, що містять разом мікро- і наносфери. Завдяки конструюванню нових носіїв лікарських засобів можлива імітація структурної організації біосистем, що мають не тільки достатню ефективність, але і біологічну сумісність з тканинами організму.

ЗАВИСИМОСТЬ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ОТ НАГРУЗКИ НАНОСФЕРЫ СО-ПОЛИМЕР МОЛОЧНО-ГЛИКОЛЕВАЯ КИСЛОТА

Горчакова Н.А., Макаrchук С.Д., Чекман И.С.

Резюме: Система доставки лекарств (СДЛ) на основе полимера, в который входит молочнокислотная кислота (ПМГК) используются с целью поступления биологически активных соединений в течение длительного периода времени. Исследователи обращают внимание на не токсичность метаболитов при преобразовании полимеров СДЛ. В этом исследовании определяли эффективность наносферы ПМГК зависимости от их диаметра.

Ключевые слова: поле (молочно-гликолевая кислота) ПМГК, дексаметазон, микросфера, наносферы, остеобласты.

ЗАВИСИМОСТЬ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ОТ НАГРУЗКИ НАНОСФЕРЫ СО-ПОЛИМЕР МОЛОЧНО-ГЛИКОЛЕВАЯ КИСЛОТА

Gorchakova N.A., Makarchuk S.D., Chekman I.S

Abstract: A drug delivery system (DDS) based polymer, which includes lactic glycolic acid (PMHK) used for receipt of biologically active compounds for a long period of time. Researchers do not pay attention to the toxicity of metabolites in the conversion of polymers DDS. This study determined the effectiveness nanosfer PMHK depending on their diameter.

Key words: poly (lactic-glycolic acid) PMHK, dexamethasone, microspheres nanosfera, osteoblasts.

ЛІТЕРАТУРА

- 1) Чекман І. С. Нанофармакологія.-К.: Задруга, 2011.-424 с.
- 2) Astete C.E., Sabliov СМ. Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. - 2006. - Vol. 17, №3. - P. 247-289.
- 3) U., Alltmann E., Doelker E. Strategic approaches for overcoming peptide and protein instability within biodegradable nano- and microparticles // Eur. J. Pharm. Biopharm. - 2005. - Vol. 59, №3. - P. 375-388.
- 4) Dawes G. J. S., Fratila- Apachitei L. E., Mulia A. et al, Size effect of PLGA spheres on drug loading efficiency and release profiles // J. Mater. Med. - 2009. - Vol. 2. - P.1089-1094.
- 5) Farazuddin M., Chauhan A., Khan R.M., Owais M. Amoxicillin-bearing microparticles: potential in the treatment of *Listeria monocytogenes* infection in Swiss albino mice // Biosci. Rep. - 2011. - Vol. 31, №4. - P. 265-272.
- 6) Gomez-Gaete C, Tsapis N., Besnard M., Bochot A. et al. Encapsulation of dexamethasone into biodegradable polymeric nanoparticles // Int. J. Pharm. - 2007. - Vol. 331, №2. - P. 153-159.
- 7) Hickey T., Kreutzer D., Burgess D.J. In vivo evaluation of a dexamethasone/PLGA microsphere system designed to suppress the inflammatory tissue response to implantable medical devices // J. Biomed. Mater. Res. - 2002. - Vol. 61, №2. - P. 180-187.
- 8) Hickey T., Kreutzer D., Burgess D.J., Moussy F. Dexamethasone/PLGA microspheres for continuous delivery of an anti-inflammatory drug for implantable medical devices // Biomaterials. - 2002. - Vol. 23, №7. - P. 1649-1656.
- 9) Ignatius A.A., Claes L.E. In vitro biocompatibility of bioresorbable polymers: poly(L, DL-lactide) and poly(L-lactide-co-glycolide) // Biomaterials. - 1996. - Vol. 17, №8. - P. 831-839.
- 10) Jager M., Fischer J., Dohrn W. et al. Dexamethasone modulates BMP-2 effects on mesenchymal stem cells in vitro // J. Orthop. Res. - 2008. - Vol. 26, №11. - P. 1440-1448.
- 11) Jaraswekin S., Prakongpan S., Bodmeier R. Effect of poly(lactide-co-glycolide) molecular weight on the release of dexamethasone sodium phosphate from microparticles // J. Microencapsul. - 2007. - Vol. 24, №2. - P. 117-128.
- 12) Jimenez-Valero S., Santos B., Pajin F. et al. Clinical outcomes of dexamethasone-eluting stent implantation in ST-elevation acute myocardial infarction // Catheter Cardiovasc. Interv. - 2007. - Vol. 70, №4. - P. 492-497.
- 13) Kempen D.H., Lu L., Hefferan T.E. et al. Retention of in vitro and in vivo BMP-2 bioactivities in sustained delivery vehicles for bone tissue engineering // Biomaterials. - 2008. - Vol. 29, №22. - P. 3245-3252.
- 14) Liu J., Zhang S.M., Chen P.P. et al. Controlled release of insulin from PLGA nanoparticles embedded within PVA hydrogels // J. Mater. Sci. Mater. Med. - Vol. 18, №11. - P. 2205-2210.
- 15) Sahoo S.K., Panyam J., Prabha S., Labhasetwar V. Residual polyvinyl alcohol associated with poly (D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles affects their physical properties and cellular uptake // J. Control. Release. - 2002. - Vol. 82, №1. - P. 105-114.
- 16) Shive M.S., Anderson J.M. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres // Adv. Drug Deliv. Rev. - 1997. - Vol. 28, №1. - P. 5-24.
- 17) Wei G., Pettway G.J., McCauley L.K., Ma P.X. The release profiles and bioactivity of parathyroid hormone from poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres // Biomaterials. - 2004. - Vol. 25, №2. - P. 345-352.
- 18) Wu X.S., Wang N. Synthesis, characterization, biodegradation, and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid polymers. Part II: biodegradation // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. - 2001. - Vol. 12, №1. - P. 21-34.