

Иммобилизованные клетки и ферменты в фармакохимии болеутоляющих средств

Паентко В.В.¹, Богданова Н.А.², Матковский А.К.¹

¹Институт химии поверхности имени А.А.Чуйко НАН Украины, Киев, Украина

²Институт физиологии имени А.А.Богомольца НАН Украины, Киев, Украина

Резюме. В статье описана перспектива использования гетерогенизированных препаратов ферментов и клеток для прогнозирования возможности метаболизма и при анализе обезболивающих средств. Показана применимость иммобилизованных биокатализаторов на биофармацевтической, фармакокинетической и фармакодинамической стадиях доклинических исследований. Подобные системы могут служить основой разработки новых биосенсоров, предназначенных для определения следовых концентраций обезболивающих средств и их метаболитов.

Ключевые слова: гетерогенизированные клетки и ферменты, болеутоляющие лекарственные средства, биосенсоры, метаболизм

Многие действующие вещества болеутоляющих средств являются субстратами и ингибиторами немикросомальных ферментов (эстераз, амидаз, фосфатаз). Под действием биокатализаторов в плазме крови и тканях, преимущественно печени, лекарства подвергаются биотрансформации, например, гидролизу. При этом под воздействием воды происходит разрыв эфирных, амидных и фосфатных связей в молекулах лекарственных веществ. Гидролизу подвергаются сложные эфиры - прокаин, суксаметоний (катализатор - холинэстераза), амиды – прокаинамид (амидаза), ацетилсалициловая кислота и др. [1,2].

Такие биопрепараты, как гомогенаты, субклеточные фракции, суспензии свежеизолированных гепатоцитов, культуры клеток, ферменты (гидролазы, амидазы, деметилазы, N-оксидазы, S-оксидазы и др.) часто используют для фармакокинетических исследований метаболизма и процессов утилизации лекарств. Он также является альтернативным методом экспериментам на животных (требование концепции 3R-(reduction, refinement and replacement)) – сокращения, усовершенствования и замены по отношению к экспериментированию на лабораторных животных), а также для определения концентрации действующего веществ [3,4].

Биологические препараты часто при хранении теряют свою активность, поэтому существует проблема их стабилизации [5-7]. Для повышения стабильности биопрепаратов разработаны методы иммобилизации. Иммобилизованными биокатализаторами называются ферменты и клетки, искусственно связанные с нерастворимыми носителями, обладающие каталитическими свой-

ствами. Такие препараты имеют ряд преимуществ по сравнению со свободными ферментами и клетками: они могут использоваться многократно, обеспечивают непрерывность каталитического процесса, легко отделяются от реакционной смеси. Такие гетерогенные катализаторы долговечны и в десятки тысяч раз стабильнее свободных биопрепаратов. Это обеспечивает высокую экономичность, эффективность и конкурентоспособность технологий, использующих иммобилизованные биокатализаторы.

Известны различные методы иммобилизации (рис.1) [8-10]. Преимуществом метода адсорбционной иммобилизации является доступность и возможность использования дешевых носителей, а недостатком – слабая прочность связывания биокатализатора с твердой поверхностью.

При иммобилизации ферментов и клеток в гели имеет место эффект захватывания – «ловушки» катализатора в процессе формирования структуры носителя. Преимущество – более сильное связывание за счет локализации биокатализатора в пустотах полимерной сетки, а также простота получения. Существенным недостатком является то, что большинство полимеров бактерицидно неустойчивые, и трудность получения заданного состава.

Химические методы иммобилизации кросс-сшивки и ковалентная сшивка позволяют получать наиболее стабильные препараты, однако являются сложными в исполнении, особенно при получении в больших количествах. Требуется предварительная модификация поверхности носителя, что усложняет процесс синтеза. Такие методы иммобилизации способны приводить к существенным

изменениям свойств гетерогенизованных препаратов, например, субстратной специфичности, каталитической активности и стабильности. Также необходимо защищать активный центр фермента в процессе модификации. Возникают дополнительные требования к чистоте прекурсоров.

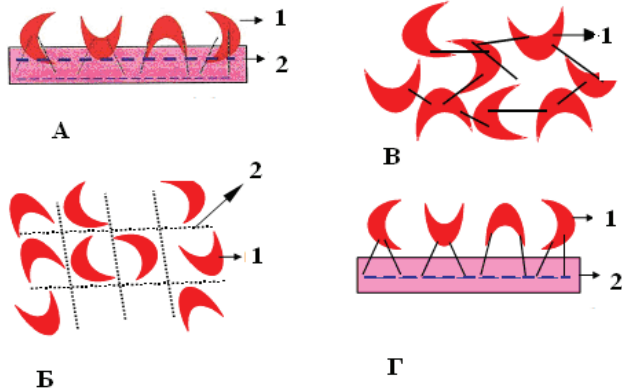


Рис. 1. Методы иммобилизации ферментов и клеток.

А) адсорбция, Б) включение в гель, В) кросс-сшивка, Г) ковалентная сшивка; 1-биокатализатор, 2-носитель [8].

Наиболее универсальный метод иммобилизации - включение в полимерный гель [11]. С целью получения удобных форм клеток и ферментов были предложены гибридные кремнеземполимерные системы, где полимер создает для биокатализатора условия, близкие к *in vivo*, а кремнеземная составляющая понижает риск бактерицидного поражения [6,12,13] (рис.2).

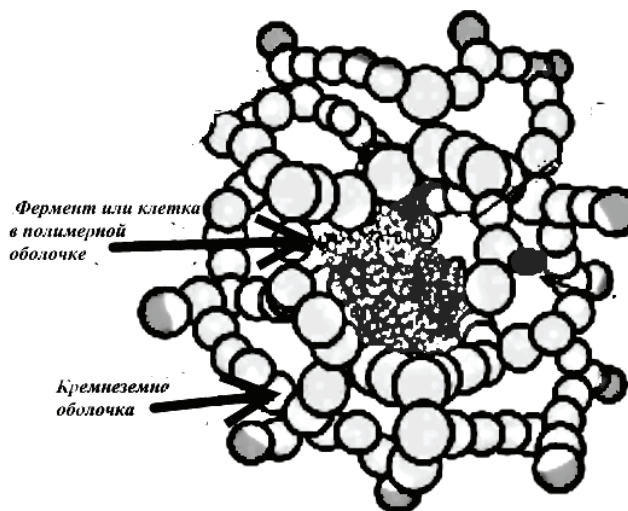


Рис. 2. Схема строения гибридных кремнеземполимерных систем.

Использование таких гетерогенизованных препаратов позволяет осуществить экспресс-оценку возможности метаболизма действующих веществ новых лекарств, в том числе и обезболивающих [14].

Неотъемлемой стадией разработки лекарственного препарата являются доклинические

исследования, которые условно подразделяют на фармакологические и токсикологические. Фармакологические исследования с использованием иммобилизованных препаратов ферментов и клеток могут быть направлены на изучение терапевтической эффективности лекарства и его влияния на организм [15].

Сформулированные к настоящему времени основные принципы установления количественных соотношений между химической структурой и фармакологической активностью можно представить в виде трех основных стадий (биофармацевтическая, фармакокинетическая, фармакодинамическая). Первая стадия включает исследование исходного биологически активного вещества и создание на его основе готовой лекарственной формы. Вторая – фармакокинетическая – включает исследование таких происходящих в организме кинетических процессов, как всасывание, распределение, связывание с белками, биотрансформация и выведение (экскреция) лекарственных средств. Эти процессы изучаются в сопоставлении с фармакологическим или токсическим действием этих веществ на организм. Третья стадия – фармакодинамическая – включает исследование взаимодействия лекарственных веществ с рецептором и влияние на регуляторные системы. Только на этой стадии в полной мере проявляется и является специфичной взаимосвязь химической структуры лекарства и его фармакологического эффекта. Следовательно, биологическая активность лекарств объясняется последовательно происходящими тремя фазами: биофармацевтической, фармакокинетической и фармакодинамической. Иммобилизованные препараты ферментов и клеток могут быть применены практически на каждой стадии. Использование подобных препаратов в различных методиках основано на том, что они ведут себя как неподвижные фазы, обладающие высокой активностью, специфичностью и воспроизводимыми характеристиками. Именно последнее открывает широкие перспективы использования иммобилизованных биопрепаратов в качестве модельных объектов для изучения процессов метаболизма многих лекарственных средств, в т.ч. болеутоляющих. Например, проведение кинетических исследований на композиционных препаратах с холинэстеразной активностью позволило оценить каталитические свойства нативной и иммобилизованной ацетилхолинэстеразы (АХЭ) электрического органа электрического угря (*Acetylcholinesterase from Electroporus electricum* (electric eel)) в реакции расщепления прокаина (рис. 3) [14].



ность свободной и иммобилизованных холинэстераз / Паентко В.В., Матковский А.К., Матрунчик Ю.В., Зуб Ю.Л. // Поверхность. – 2012. – №4(19). – С. 327–332.

14. Паентко В.В. Расщепление новокаина нативной и иммобилизованной ацетилхолинэстеразой электрического органа электрического угря (*Acetylcholinesterase from Electroporus electricum (electric eel)*) с целью определения возможности метаболизма / Паентко В.В., Матковский А.К., Матрунчик Ю.В., Зуб Ю.Л. // Украинский журнал боли. – 2012. – Т.1, №2. – С. 38–41.

15. Иванютин В.А., Недорезов В.Л. Доклинические исследования лекарственных средств / Иванютин В.А., Недорезов В.Л. // Труды БГУ. – 2010. – Т.5, Ч.1 – С. 291–295.

16. Бондарева И.Б. Статистический анализ данных исследований биоэквивалентности. Клиническая фармакокинетика / Бондарева И.Б. // М.: Медицина. – 2004. – 30 с.

17. Zhang Y. Immobilized nicotinic receptor stationary phase for on – line liquid chromatographic determination of drug – receptor affinities / Zhang Y, Xiao Y, Kellar KJ, Wainer IW. // Anal Biochem. – 1998. № 264(1). – P. 22–25.

18. Asturias – Arribas L. Screen – printed biosensor based on the inhibition of the cetylcholinesterase activity for the determination of codeine / Asturias – Arribas L, Alonso – Lomillo MA, Domínguez – Renedo O, Arcos – Martínez MJ. // Talanta. – 2013 – №1 – P. 8–12.

19. Norouzi P. A Novel Acetylcholinesterase Biosensor Based on Chitosan – Gold Nanoparticles Film for Determination of Monocrotophos Using FFT Continuous Cyclic Voltammetry / Norouzi P., Pirali – Hamedani M., Ganjali M., Faridbod F. // Int. J. Electrochem. Sci. 2010. - №5. – P. 1434–1446.

Використання іммобілізованих клітин та ферментів у фармакохімії знеболювальних лікарських засобів

Паентко В.В.¹, Богданова Н.О.², Матковський О.К.¹

¹Інститут хімії поверхні імені А.А. Чуйка НАН України, Київ, Україна; ²Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ, Україна

Резюме. У статті описана перспектива використання гетерогенізованих препаратів ферментів і клітин для прогнозування можливості метаболізму і при аналізі знеболюючих засобів. Показана можливість застосування іммобілізованих біокатализаторів на біофармацевтичній, фармакокінетичній і фармакодинамічній стадіях доклінічних досліджень. Подібні системи можуть служити основою розробки нових біосенсорів, призначених для визначення слідових концентрацій знеболюючих засобів та їх метаболітів.

Ключові слова: гетерогенізовані клітини і ферменти, знеболювальні лікарські засоби, біосенсори, метаболізм.

Immobilized cells and ferments in pharmacology of analgesics

Payentko V.V.¹, Bogdanova N. A.², Matkovsky A.K.¹

¹Chuyko institute of chemistry of surfaces, Kyiv, Ukraine; ²Bohomolets institute of physiology, Kyiv, Ukraine

Summary. The perspective of using heterogeneous ferments and cells preparations for prediction of metabolism possibility and under analysis of analgesics have been described in this work. The applicability of immobilized biocatalysts at the biopharmaceutical, pharmacokinetic, pharmacodynamic stages in pre-clinical examinations has been shown. Such systems may be employed as biosensors for determination trace concentrations of analgesic and their and their metabolism.

Keywords: heterogeneous cells and ferments, analgesics, biosensors, metabolism.

Получено 01.02.2016

Адрес для переписки:
Паентко Виктория Васильевна
Институт химии поверхностей им. А.А. Чуйко
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164
payentko@mail.ru

© Паентко В.В., Богданова Н.А., Матковский А.К. 2016

© Украинский журнал боли, 2016

© Украинская ассоциация по изучению боли, 2016

