



УДК 606:619:615.3:616-084

Т.В. НЕМОВА, канд. вет. наук, асистент
С.І. ГОЛОПУРА, канд. вет. наук, доцент
М.О. МАРИНЮК, аспірант

М.І. ЦВІЛІХОВСЬКИЙ, докт. біол. наук, професор, академік НААНУ
Національний університет біоресурсів і природокористування України,
Київ

ЗАСТОСУВАННЯ ЛІПОСОМАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ НАНОТЕХНОЛОГІЙ ТА ФАКТОРИ РИЗИКУ

Показано особливості терапевтичної дії ліпосомальних препаратів, виготовлених на основі нанотехнологій, та описано фактори ризику потенційної їх нанотоксичності.



Дослідження терапевтичної дії ліпосомальних препаратів на основі нанотехнологій на етапах їх створення й застосування у ветеринарній медицині є важливою складовою практичного впровадження останніх досягнень науки, а визначення фармакокінетики цих препаратів може розглядатись як один з основних методів контролю їх якості [10].

Враховуючи особливості транспорту ліпосомальних фармакологічних препаратів, їх транслокацію крізь клітинні мембрани й метаболічні трансформації, можна зробити висновок про те, що вони мають унікальні властивості, пов'язані насамперед з особливостями їх фармакокінетики [1].

Застосування ліпосом як носія лікарських засобів дозволяє в одних випадках істотно збільшити біодоступність препарату, а в інших, навпаки, запобігти надмірному підвищенню його концентрації в крові, тим самим знижуючи небезпеку передозування й зменшуючи побічний ефект. Найбільш значущим способом оцінки ефективності нових ліпосомальних лікарських форм є існуючий арсенал фармакокінетичних методів, тобто різних сучасних методів оцінки біодоступності речовин [10].

Особливу роль ліпосоми почали відігравати в зв'язку з появою нового покоління препаратів, одержуваних завдяки методам біотехнології, таких як білкові й пептидні, а також препарати на основі нуклеїнових кислот. У зв'язку

з чутливістю зазначених препаратів до хімічного й ферментативного гідролізу, а також поганим поглинанням клітинами значні труднощі виникають у разі перорального їх введення. Серед можливих стратегій подолання таких труднощів на головному місці – застосування мікро- і наночастинок, які сприяють поліпшенню поглинання й транспортування препаратів, що вводяться перорально.

На цей час перебувають на стадії розроблення ліпосомальні форми лікарських засобів, які вивільняють пептидні препарати тільки в товстому кишечнику, де протеолітична активність є досить низькою. Добрий ефект забезпечують твердодіпідні носії, що мають такі переваги:

- модульоване вивільнення препарату;
- поліпшену біодоступність;
- захист хімічно лабільних молекул, наприклад ретинолу і пептидів, від біодеградації.

На основі ліпосом створено системи доставки до клітин-мішеней різних факторів, наприклад, людського епідермального фактора росту. Цей пептид добре інкапсулюється в мультівезикулярні ліпосоми (60% завантаження при концентрації 5 мг/мл) і демонструє добрий терапевтичний ефект при виразці шлунка. На щурах показано, що пептидний препарат при пероральному введенні є більш ефективним порівняно з циметидином. Розроблено ліпосомальну форму для перорального

введення рекомбінантного людського еритропоєтину, яка в експерименті на щурах демонструє біодоступність до 31% [7].

Фармакокінетика інкапсульованих у ліпосоми ліків, зокрема цитостатиків, визначається взаємодією двох факторів: швидкістю виведення з плазми (кліренс) ліпосомального препарату і стабільністю з'єднання ліпосом з ліками в кров'яному руслі [6]. Цей процес залежить від властивостей препарату й ліпосомального носія, а саме:

- розміру ліпосом та їх фізико-хімічних властивостей;
- проникності окремих тканин;
- природи зв'язку між ліпосомами і лікарською речовиною.

Використання поліетиленгліколю (ПЕГ) для покриття ліпосом робить їх більш захищеними від впливу ретикулоендотеліальної системи, що, в свою чергу, веде до збільшення тривалості напівперіоду існування препарату в кров'яному руслі й повільного проникнення його в тканини. ПЕГ-покриття ліпосом також гальмує білково-опосередковане зв'язування з клітинами. Крім того, через ПЕГ-покриття знижується поглинання ліпосом не тільки клітинами Купфера, а й гепатоцитами.

Нанофармакологічні засоби транспортування препаратів відіграють важливу роль у фармакології нових антиоксидантних засобів. Антиоксидантні агенти малорозчинні, вони мають погану хімічну стабільність і швидко руйнуються в травному каналі. Засто-



сування ліпосомальних форм супероксиддисмутази, лікопену, коензиму Q10, кверцетину та багатьох інших антиоксидантів дало змогу вирішити низку медичних проблем.

Істотно підвищує ефективність ліпосомального транспорту застосування ліпосом, асоційованих з молекулами фолієвої кислоти. Більша ефективність фармакокінетичних властивостей ліпосом з фолієвою кислотою пов'язана з тим, що вона здатна зв'язуватися з рецепторами ентероцитів на поверхні клітин травного каналу. Застосування цефотаксиму в формі фолатасоційованих ліпосом викликало значне збільшення пікової концентрації препарату в плазмі (Стах) (у 1,4–2 рази) порівняно з ліпосомальною формою без фолієвої кислоти [1].

Ще однією важливою особливістю дії ліпосом є зниження гематотоксичності й кардіотоксичності протипухлинних препаратів, зокрема антибіотиків тетрациклінового ряду. Це дозволяє значно зменшити побічну дію хіміотерапії, адже кардіотоксичність зазначених препаратів є одним з основних факторів, що обмежує їх застосування в клінічній практиці. Включення антибіотиків у ліпосоми дозволяє не тільки використовувати їх у повному обсязі, але й підвищити дозу, що стає можливим у зв'язку зі зміною їх фармакокінетики та меншим накопиченням у серцевому м'язі. Крім того, фосфатидилхолінові ліпосоми можуть знижувати процеси пероксидного окиснення ліпідів і зменшувати їх безпосередній вплив на мітохондрії та ядро кардіоміоцитів.

В останні роки відбулися значні модифікації мембран ліпосом, які дозволили їм уникати зустрічі з фагоцитами, стабілізувати їх мембрани, знаходити клітини-мішені за допомогою молекулярного компаса (антитіл) і, як наслідок, здійснювати спрямований транспорт ліків (Drug Delivery).

Оригінальним напрямом у ліпосомології стало розроблення нового покоління лікарських препаратів – *імуноліпосом*, до яких прикріплені моноклональні антитіла (МКА). МКА забез-

печують специфічне зв'язування ліпосом з антигенпозитивними клітинами, а ліпосоми несуть відповідний гідрофобний або гідрофільний хіміотерапевтичний препарат.

Перевагою нанопрепаратів у ліпосомальній формі є здатність долати гематоенцефалічний бар'єр і чинити фармакологічну дію в клітинах головного мозку. Це є основою для створення в майбутньому ефективних «мішеневих» препаратів для лікування пухлин головного мозку. Однак існує небезпека побічної дії таких препаратів у головному мозку.

Гематоенцефалічний бар'єр затримує надходження в головний мозок усіх молекул, крім тих, які проходять через мембрани ендотеліальних клітин у жоророзчинному стані (окисген, двоокис вуглецю, етанол, стероїдні гормони), а також тих молекул, які розпізнає специфічна транспортна система (наприклад, глюкоза, деякі амінокислоти). Подолати гематоенцефалічний бар'єр можуть речовини з молекулярною масою менше 500 дальтон, тоді як для молекул з більшою молекулярною масою, як правило, потрібен сприяючий фактор або зовнішній агент, що забезпечить його подолання [5].

Нещодавно було створено нанокapsули-ліпосоми (наносоми), які здатні проникати через гематоенцефалічний бар'єр. Зокрема експериментально доведено, що тверді ліпідні наночастинки можуть доставляти цитотоксичні й генно-терапевтичні препарати в клітини головного мозку, минаючи гематоенцефалічний бар'єр, виявляючи при цьому значну загальну й місцеву алергенну дію ліпосом у свиней і собак (меншою мірою – у щурів). Дослідження трансцитозу 60-нанометрових пористих наночастинок засвідчують, що при температурі 37°C електрично нейтральні й позитивно заряджені наночастинки проникають через гематоенцефалічний бар'єр і впливають на головний мозок, а деякі препарати, наприклад філіпін, підсилюють їх проходження через бар'єр. Доведено, що біологічно сумісні поліестери можуть утворювати наночастинки в комплексі з олігопептидами, й такі наночастинки також здатні долати гематоенцефалічний бар'єр [11].

Вважається, що наночастинки можуть проходити гематоенцефалічний бар'єр за механізмом ендоцитозу. У той же час досі не відомі механізми їх дії на головний мозок у нормі та за патології. Наприклад, не встановлено, чому про-





никність препаратів через гематоенцефалічний бар'єр істотно зростає при гіпертермії. А втім, існують дані, що вказують на нейротоксичність деяких наночастинок. Зокрема наночастинки металів (Cu, Ag, Al) діаметром близько 50–60 нм здатні викликати дисфункцію в роботі головного мозку, а також зміни його клітин у здорових тварин і посилювати патологію головного мозку, викликану загальною гіпертермією.

Проте наночастинки феруму оксиду можуть бути міткою при ЯМР-томографії руху макрофагів головного мозку. Для діагностики фармакокінетики самих наночастинок (зокрема ліпосом) можна застосовувати радіоактивні мітки всередині нанокапсул [5].

Зазначимо, що на цей час ще жоден із нанопрепаратів для центральної нервової системи не пройшов клінічних випробувань і питання безпеки нанотерапії не вирішені.

Лікарські речовини у вигляді наночастинок металів також мають ще не до кінця досліджені властивості, які впливають на їх фармакокінетику (всмоктування, розподіл у тканинах, біотрансформацію, виведення з організму тощо).

Систематичне дослідження законо-

мірностей дії нанопрепаратів дозволить визначити їх терапевтичний потенціал і можливі ризики для здоров'я людини чи тварин.

Наночастинки металів мають вищу токсичність, ніж звичайні мікрочастинки. Вони здатні проникати в незміненому вигляді через клітинні бар'єри, а також через гематоенцефалічний бар'єр у центральну нервову систему, циркулювати й накопичуватися в органах і тканинах, викликаючи більш виражені патоморфологічні ураження внутрішніх органів (наприклад, гранульоми в легенях, цироз печінки, гломерулонефроз). Маючи тривалий період напіввиведення, наночастинок металів украї важко виводяться з організму.

Токсичність наночастинок визначається формою і розмірами. При цьому найдрібніші наночастинок веретеноподібної форми викликають більш руйнівний ефект в організмі, ніж подібні до них сферичні частинки. При впливі наночастинок на організм чітко простежується залежність «доза-ефект». Клінічні прояви визначаються вмістом того чи іншого хімічного елемента в складі кожної конкретної наночастинок, однак при цьому спостерігається значне посилення токсичного ефекту.

Органами-мішенями для наночастинок є легені, печінка, нирки, головний мозок, шлунково-кишковий тракт. Простежується залежність органів-мішеней від шляху надходження. При впливі наночастинок на організм людини можливий розвиток оксидативного стресу, інгаляційної/трансдермальної асиміляції (накопичення і засвоєння), астми, хронічних обструктивних хвороб легенів, злоякісних новоутворень (рак легенів), нейродегенеративних захворювань, порушень з боку серцево-судинної системи і серцевої діяльності, порушення геному клітини.

Встановлено, що наночастинок металів можуть знищувати ракові клітини, якщо ними наситити пухлину, а потім нагріти її змінним магнітним полем до температури, за якої ракові клітини будуть знищені (спосіб перебуває на стадії розроблення) [2].

У ветеринарній медицині на цей час детально досліджено й описано дію наноакваелатів металів – Ag, Cu, Zn, Mg, Co, Fe тощо, які являють собою систему деіонізованої води й гідратованих та карбоксильованих наночастинок металів. Зокрема це вплив наноакваелатів Ag, Cu, Zn на вирощування й резистентність курчат-бройлерів, продуктивність



курей-несучок. Визначено терапевтичний ефект наноаквахелатів при респіраторних захворюваннях птахів, гепатодистрофії, респіраторному мікоплазмозі тощо. Отримано позитивні результати при застосуванні наноаквахелатів для лікування дерматозів, отитів, кон'юнктивітів, ранових інфекцій, гнійних ендометритів у собак. Лікувальний ефект наноаквахелатів встановлено при дизентерії, колідиарії, інфекційних захворюваннях травного каналу, гострих респіраторних захворюваннях у свиней; кератокон'юнктивітах, артритях, гострих респіраторних захворюваннях, маститах у великої рогатої худоби [3, 4].

Встановлено, що наноаквахелати біогенних металів сприяють регенерації тканин і стимулюють метаболічні процеси в біологічних об'єктах. Метаболічна активність мікроелементів, які застосовувались у вигляді наноаквахелатів, обумовлена їх дією як стимуляторів перебігу фізичних і хімічних процесів в організмі тварин. Біологічний ефект наноаквахелатів обумовлений генерацією енергії у вигляді вільних і поверхневих атомів, іонів, молекулярного кисню та гідрогену, що безпосередньо впливає на посилення специфічної й неспецифічної резистентності організму тварин. Крім того, застосування наноаквахелатів мікроелементів дозволяє значно зменшити дозу мікроелементів, не знижуючи їх біологічної ефективності [3].

Отже, розроблення й застосування у ветеринарній медицині препаратів на основі нанотехнологій має як свої переваги, так і недоліки, пов'язані з недостатнім вивченням дії наночастинок на організм людей і тварин, а також їх віддаленими наслідками.

Авторитетний медичний журнал «Ремедіум» (№9, 2008) опублікував список ризиків, пов'язаних з уведенням наноречовин в організм людини. Основні з них:

– канцерогенність. Збільшення адсорбційної ємності, хімічної реакційної здатності й каталітичних властивостей нанопрепаратів може призводити до пошкодження біологічних структур (ліпідів, білків, нуклеїнових кислот, зокре-

ма ДНК, що є фактором виникнення онкологічних захворювань);

– токсичність. Багато наноматеріалів мають гідрофобні властивості, що посилює процеси сорбції ними різних токсикантів і здатність останніх проникати через бар'єри організму;

– накопичення в організмі. За малого розміру наночастинок можуть не розпізнаватися захисними системами організму, не піддаватися біотрансформації й не виводитися з нього, що призводить до їх накопичення.

Дослідження можливих ризиків займає важливе місце в доклінічних і клінічних випробуваннях препаратів, виготовлених на основі нанотехнологій. Проте розроблення таких засобів дає можливість перейти на якісно нову орієнтовану систему лікування – так звану «індивідуальну» терапію, що дозволить вирішити низку актуальних проблем ветеринарної медицини.

СПИСОК

ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Белоусов А.Н.** Влияние препаратов нанотехнологии на клеточный метаболизм / А.Н. Белоусов // Лаборатория прикладных нанотехнологий А.Н. Белоусова. – www.nanolab.com.ua/article.html.
2. **Белоусов А.Н.** Нанотехнология на пути продления жизненных процессов в организме / А.Н. Белоусов // Лаборатория прикладных нанотехнологий А.Н. Белоусова. – www.nanolab.com.ua/article5.html.
3. **Борисевич В.Б.** Біологічна активність нанопорошків металів / В.Б. Борисевич, В.Б. Борисевич, М.А. Куліда, В.Б. Борисевич // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 7. – С. 42–43.
4. **Борисевич В.Б.** Наноматериалы и нанотехнологии в ветеринарной практике / В.Б. Борисевич, В.Г. Каплушенко, Н.В. Косинов [и др.]; под ред. В.Б. Борисевича, В.Г. Каплушенко. – К.: Авиценна, 2012. – 512 с.
5. **Борисов Н.М.** Наночастицы, нанопрепараты и гематоэнцефалический барьер / Н.М. Борисов // Материалы конф. «Методологические проблемы изучения и оценки био- и нанотехнологий (нановолны, частицы, структуры, процессы, биообъекты) в экологии человека и гигиене окружающей

среды», Москва, 17–18 декабря 2007 г. – М., 2007.

6. **Дранов А.Л.** Липосомальные формы цитостатиков – новый напрямок в химиотерапии рака / А.Л. Дранов, О.С. Дудніченко, К.А. Бутенко [та ін.] // Вісник фармації. – 1994. – № 3–4. – С. 88–92.
7. **Каплун А.П.** Липосомы и другие наночастицы как средство доставки лекарственных веществ / А.П. Каплун, Ле Банг Шон, Ю.М. Краснопольский, В.И. Швец // Вопросы медицинской химии. – 1999. – № 4 (1). – С. 3–12.
8. **Немова Т.В.** Перспективы застосування препаратів на основі нанотехнологій у ветеринарній медицині / Т.В. Немова // Ветеринарна медицина України. – 2013. – № 1. – С. 35–37.
9. **Ткачук В.А.** Нанотехнологии и медицина / В.А. Ткачук // www.Nanoru.Ru : Российские нанотехнологии. – 2009. – Т. 4, № 7–8. – С. 11–13.
10. **Ушкалов В.О.** Визначення біонебезпечності та біосумісності наночастинок металів для потреб ветеринарної медицини / В.О. Ушкалов, М.Є. Романько [та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 6. – С. 30–33.
11. **Dass C.R.** Enhanced anticancer therapy mediated by specialized liposomes / C.R. Dass, T.L. Walker, M.A. Burton, E.E. Decruz // J. Pharm. Pharmacol. – 1997. – Т. 49, № 10. – P. 972–975.
12. **Gabison A.** Development of liposomal anthracyclines: from basics to clinical applications / A. Gabison, D. Goren, R. Cohen, Y. Barenholz // J. Controlled Release. – 1998. – Т. 53, № 1–3. – P. 275–279.

Одержано 6.02.2013

Применение липосомальных препаратов на основе нанотехнологий и факторы риска. Т.В. Немова, С.И. Голопура, Н.А. Маринюк, Н.И. Цвиллиховский

Показаны особенности терапевтического действия липосомальных препаратов, изготовленных на основе нанотехнологий, и описаны факторы риска потенциальной их нанотоксичности.

The use of liposomal drugs based on nanotechnology and risk factors. T.V. Nemova, S.I. Golopura, M.O. Marinyuk, M.I. Tsvilikhovsky

The features of the therapeutic effect of liposomal products based on nanotechnology, and the potential risks of toxicity are described. ◉