

Л.Ф. Галиуллина

Учебное пособие

**ПРИНЦИПЫ И СИСТЕМЫ
АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Корректура ЛФ.

КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Л.Ф. ГАЛИУЛЛИНА

**ПРИНЦИПЫ И СИСТЕМЫ
АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Учебное пособие



КАЗАНЬ

2021

УДК 615.1/.4(075.8)

ББК 51.1(2)2я73

Г15

*Печатается по рекомендации учебно-методической комиссии
Института физики Казанского федерального университета*

*Рекомендовано ФУМО по УГСН 03.00.00 «Физика и астрономия»
для обучающихся по основным образовательным программам
высшего образования по направлению подготовки «Физика»
уровня магистратуры (03.04.02), специалитета по специальности
«Фундаментальная и прикладная физика» (03.05.02)»
(заключение № 58-21/103-03 от 22 января 2021 г.)*

Рецензенты:

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии
Казанского государственного медицинского университета **Ю.А. Чельшев;**
кандидат физико-математических наук, доцент кафедры медицинской физики Института
физики Казанского (Приволжского) федерального университета **А.В. Халиуллина**

Научный редактор

доктор химических наук, профессор,
заведующий кафедрой медицинской физики Института физики
Казанского (Приволжского) федерального университета **А.В. Аганов**

Галиуллина Л.Ф.

Г15 Принципы и системы адресной доставки лекарственных средств: учебное пособие /
Л.Ф. Галиуллина. – Казань: Издательство Казанского университета, 2021. – 172 с.

ISBN 978-5-00130-457-9

Данное учебное пособие посвящено описанию классификации систем адресной доставки лекарственных средств, нашедших применение в клинической медицине, анализу способов создания полимерных систем, систем с нано- и микрочастицами. Рассмотрены принципы и способы адресной доставки лекарственных веществ в очаги заболевания, включая антитела и интеллектуальные системы диагностики и доставки лекарств. Представлены современные методы драг-дизайна, в том числе обсуждены возможности и ограничения компьютерных технологий.

Учебное пособие «Принципы и системы адресной доставки лекарственных средств» сопровождают одноименный специальный курс для магистрантов 2 года, обучающихся по направлению 03.04.02 Физика, профиль «Медицинская физика», в полном соответствии с утвержденной программой. Пособие может быть рекомендовано также студентам ряда медико-биологических специальностей при изучении некоторых разделов, например, фармакологии и медицинской биофизики.

Учебное пособие снабжено обширным информативным иллюстративным материалом в цветном изображении.

Научный редактор выражает благодарность инженеру кафедры медицинской физики Н.Ф. Галиуллиной за корректировку рисунков и помощь в подготовке рукописи к изданию.

УДК 615.1/.4(075.8)

ББК 51.1(2)2я73

ISBN 978-5-00130-457-9

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	6
ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. Основы фармакокинетики	8
1.1. Основные понятия фармакологии	8
1.2. Основы фармакокинетики	11
1.3. Всасывание, распределение и выведение лекарственных средств	22
1.3.1. Пассивный транспорт	22
1.3.2. Активный транспорт	24
ГЛАВА 2. Системы доставки лекарственных средств	30
2.1. Классификация систем доставки лекарственных средств	30
2.2. Полимерные транспортеры для доставки лекарств	39
2.2.1. Недеградируемые полимеры	39
2.2.2. Лекарственно–конъюгированные полимеры	40
2.2.3. Биodeградирующие полимеры	46
2.3. Использование микро- и наночастиц в системах доставки лекарства	54
2.3.1. Применение микросфер для доставки лекарств	55
2.3.2. Методы производства полимерных микросфер	56
2.3.2.1. Методы межфазной полимеризации	57
2.3.2.2. Выпаривание растворителя из эмульсии	63
2.3.2.3. Экструзионные методы	66
2.3.3. Факторы, влияющие на доставку лекарств	69
ГЛАВА 3. Принципы адресной доставки лекарств	75
3.1. Стратегии адресной доставки	77
3.2. Системы для адресной доставки лекарств	80
3.2.1. Нанотехнологические системы доставки	80
3.2.2. Интеллектуальные капсулы	96
3.2.3. Терапевтические моноклональные антитела	100
3.2.4. Применение фолата для адресной доставки лекарств	100

ГЛАВА 4. Адресная доставка лекарств с использованием антител	103
4.1. Антитела	103
4.2. Присоединение антител к токсину	108
4.3. Внутриклеточная адресация с использованием биспецифических антител	110
4.3.1. <i>Кислотно-стимулируемое высвобождение эффектора из биспецифических антител</i>	112
4.3.2. <i>Бинарный способ доставки на основе биспецифических антител</i>	114
ГЛАВА 5. Интеллектуальные системы диагностики и доставки лекарств	117
5.1. История развития интеллектуальных систем для доставки лекарств	117
5.2. Требования, предъявляемые к интеллектуальным системам доставки	120
5.3. Механизмы высвобождения лекарства интеллектуальными системами доставки	122
5.3.1. <i>Пассивные механизмы высвобождения</i>	122
5.3.2. <i>Активные механизмы высвобождения</i>	125
5.4. Навигация капсул	129
5.4.1. <i>Внутренние механизмы передвижения</i>	130
5.4.2. <i>Внешние механизмы перемещения</i>	135
5.4.3. <i>Стимулирование перистальтики</i>	143
5.5. Телеметрия и методы определения положения капсул	144
ГЛАВА 6. Дизайн новых лекарственных средств	147
6.1. Основные понятия драг-дизайна	147
6.1.1. <i>Определение и валидация мишени</i>	149
6.1.2. <i>Комбинаторная химия и высокопроизводительный скрининг</i>	151
6.2. Использование вычислительной техники в технологии драг-дизайна	154

<i>6.2.1. Метод, основанный на структуре мишени</i>	155
<i>6.2.2. Методы компьютерного дизайна лекарств, основанные на структуре лиганда</i>	158
ЛИТЕРАТУРА	161

Предисловие

Автор пособия Лейсан Фаритовна Галиуллина, к.ф.-м.н., доцент кафедры медицинской физики Института физики Казанского федерального университета, безвременно ушла из жизни в расцвете творческих сил. Ее работа в качестве руководителя молодежного Федерального научного проекта перешла в активную фазу. Практически подошла к завершающей стадии и работа над докторской диссертацией «Особенности взаимодействия лекарственных препаратов с различными модельными мембранами по данным спектроскопии ядерного магнитного резонанса». Работа над одним из разделов «Исследование взаимодействия терпеноидов с различными модельными мембранами» завершена защитой кандидатской диссертацией одной из ее учениц, работа по второму разделу «Исследование взаимодействия статинов с различными модельными мембранами» находится на стадии завершения ее другой ученицей. Данная книга – это авторское учебное пособие. Как правило, преподаватели выступают в качестве рецензентов по каждому новому курсу с последующим совместным обсуждением замечаний. К сожалению, на этот раз обсуждение не состоялось. По этой причине научный редактор принял на себя ответственность за внесенные в рукопись изменения и за последующие переиздания учебного пособия – дань памяти и уважения учителя ученице.

Научный редактор А.В. Аганов

ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что биологическое действие лекарства на пациента определяется его фармакологическими свойствами, которые, в свою очередь, определяются межмолекулярным взаимодействием лекарственного вещества с рецептором* в месте действия лекарства. Однако это взаимодействие будет эффективным только тогда, когда лекарство будет доставлено в необходимую область с той скоростью и в той концентрации, которые обеспечат минимум побочных и максимум терапевтических эффектов. Это и является целью адресной доставки лекарств. Адресная доставка лекарств позволяет обеспечить преимущественное распределение вещества – терапевтического агента в том или ином органе. Таким образом, открываются пути развития персонифицированной медицины и решения проблем, связанных с индивидуальной непереносимостью лекарств.

Эффективная система адресной доставки лекарства должна удовлетворять нескольким принципам. Она должна обеспечивать сохранность лекарства в процессе транспортировки к месту его действия, предотвращать преждевременное выведение из организма и деградацию, обеспечивать пролонгированное высвобождение лекарственного вещества из «устройства» доставки при достижении желаемой области в течение времени, необходимого для эффективного действия препарата. Различные части организма требуют использования специфических систем, зависящих от путей доставки.

В настоящее время адресная доставка лекарств выходит на первый план как одна из наиболее успешно развивающихся областей медицинской науки и технологий. Данное пособие предназначено для студентов магистратуры «Медицинская физика» по направлению «Физика», а также может быть рекомендовано в качестве дополнительной литературы студентам медицинских, биохимических и биофизических направлений подготовки.

*Рецептор — молекула на поверхности клетки, клеточных органелл или растворенная в цитоплазме, которая специфично реагирует изменением своей пространственной конфигурации на присоединение к ней молекулы определённого химического вещества.

ГЛАВА 1. Основы фармакокинетики

1.1. Основные понятия фармакологии

Базовым понятием в фармакологии является *лекарственное вещество*. Лекарственное вещество (ЛВ) представляет собой компонент лекарственного препарата, оказывающий непосредственный терапевтический эффект.

Лекарственные вещества (или пролекарства^{*}) могут быть получены как с помощью химического синтеза, в том числе из лекарственного сырья путем его специальной обработки, так и биотехнологическими методами, включающими генную и клеточную инженерию.

Лекарственным средством (ЛС) в фармакологии принято называть лекарственное вещество или вещества в определенной лекарственной форме.

Словосочетание «лекарственное средство» имеет многочисленные синонимы: лекарство, лечебное средство, лекарственный препарат, медицинский препарат. Все синонимы термина «лекарственное средство» равноценны, однако термин лекарственный препарат (ЛП) чаще используют для обозначения лекарственных средств, когда это касается индивидуального химического вещества или его лекарственной формы.

Способы доставки лекарственного средства в организм определяются его лекарственной формой (рис. 1) и путем введения.

*Пролекарство – это химически модифицированная форма лекарственного средства, которая в биосредах в результате метаболических процессов превращается в само лекарственное средство.



Рис. 1. Основные лекарственные формы [1]

Лекарственная форма – это придаваемое лекарственному веществу удобное для практического применения состояние, при котором достигается необходимый лечебный или профилактический эффект.

Фактически, лекарственная форма – это способ выпуска лекарственного средства. Обычно кроме лекарственного вещества в ЛС входят дополнительные компоненты (например, целлюлоза, крахмал, тальк, сахар, мука), которые изменяют вкус, цвет или количество препарата. Суточная дозировка ЛВ, как правило, измеряется в миллиграммах – такое количество лекарственного вещества представляет собой лишь несколько мелких крупинок, едва видимых глазом. Чтобы облегчить прием заданного количества ЛВ, в него добавляют балластные вещества (наполнители), увеличивающие объем лекарственной формы до размеров, хорошо видимых невооруженным глазом. Кроме того, наполнители могут влиять на сохранность ЛВ, на скорость его высвобождения из лекарственной формы, что в большинстве случаев позволяет пациенту самостоятельно принимать лекарства.

Лекарственные формы в зависимости от консистенции подразделяют на жидкие (растворы, настои, отвары, настойки, экстракты,

слизи, микстуры, спреи, линименты^{*}), мягкие (мази, пасты, пластыри) и твердые (таблетки, драже, порошки). Одно и то же ЛС может быть назначено в различных лекарственных формах (например, в растворе, мази, таблетках).

Любое лекарственное вещество предназначено для воздействия на определенную *молекулярную мишень*. *Мишени* – это молекулы в больных органах или тканях с центром связывания для молекул лекарственного вещества.

После поступления ЛВ в организм одновременно начинаются два процесса:

- изменение концентрации лекарственного вещества во времени – фармакокинетика;
- взаимодействие лекарственного вещества с молекулярными мишенями действия в органах и тканях организма, определяющее терапевтический и побочный эффекты данного лекарственного препарата – фармакодинамика.

Вопросы, которые рассматриваются в рамках фармакокинетики и фармакодинамики, схематично представлены на рис. 2. В действительности четкой грани между фармакокинетическими и фармакодинамическими процессами нет. Нарушения как в одном, так и в другом процессе приводят к изменению концентрации лекарственного вещества в месте действия и, соответственно, к снижению эффективности терапии или повышению вероятности развития побочных эффектов [1].

^{*}Линименты – лекарственная форма только для наружного применения (чаще, путем втирания) представляет собой жидкую мазь или смесь различных раздражающих веществ с маслами, масел с растворами щелочей, мыльно-водными или мыльно-спиртовыми растворами.



Рис. 2. Взаимосвязь между фармакокинетикой и фармакодинамикой (см. [1])

1.2. Основы фармакокинетики

Целью любой фармакотерапии является достижение желаемого терапевтического воздействия при минимальных побочных эффектах. В понятие «рациональное применение лекарственных средств» входит как выбор необходимого лекарственного средства (ЛС), так и определение его дозы. Рациональный подход заключается в объединении принципов фармакодинамики и фармакокинетики, при этом фармакодинамика характеризуется зависимостью «концентрация-эффект», а в фармакокинетике изучается связь между вводимой дозой и концентрацией в месте действия.

«Стандартная» доза ЛС, определяемая в клинических исследованиях, представляет собой некоторую среднюю величину, которая не всегда может быть использована как универсальная для любого пациента в связи с его физиологическими, патологическими и другими особенностями, поэтому знание фармакокинетики и основных фармакокинетических параметров необходимо для индивидуального подхода при выборе ЛС и его дозирования.

Клиническая фармакокинетика – раздел клинической фармакологии, изучающий пути поступления лекарственных средств (ЛС) в организм человека, а также их распределение, биотрансформацию и выведение.

Одним из основных факторов, определяющих терапевтический эффект ЛС, является его концентрация в зоне рецептора. Определение

этой концентрации достаточно затруднительно, поэтому на практике для описания процессов, происходящих с ЛС в организме, используют значения концентрации ЛС в плазме крови. Движение препарата в организме принято изображать в виде фармакокинетической кривой (рис. 3), представляющей собой зависимость концентрации ЛС (или его метаболита) в плазме крови от времени после его введения.

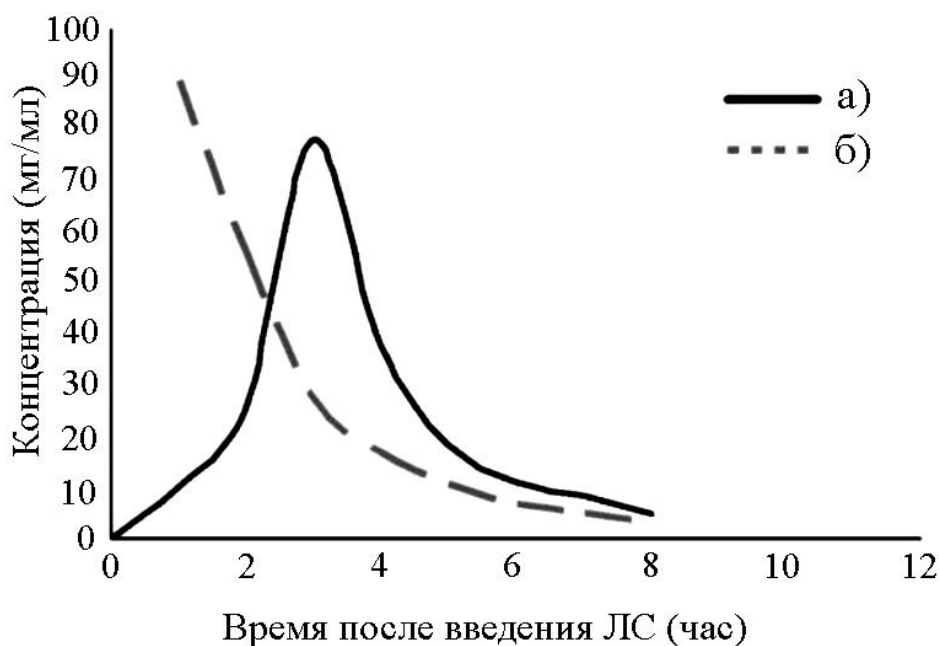


Рис. 3. Фармакокинетическая кривая: а) — для лекарственной формы со всасыванием; б) — для лекарственной формы, предназначенной для внутривенного введения [2]

К наиболее важным фармакокинетическим параметрам относятся *клиренс, объём распределения и доза*.

Доза (введенная доза) — количество лекарственного вещества, вводимого в организм за один прием (*измеряется в единицах массы, объёма, условных единицах (ЕД)*). В клинической практике различают *суточную дозу, курсовую, поддерживающую и т.п.*

Объём распределения V_d — гипотетический объём жидкости, в котором должно было бы распределиться введенное в организм вещество, чтобы его концентрация была равна таковой в плазме крови

при условии его мгновенного распределения. Иногда его еще называют «кажущийся» объем распределения. Фактически он представляет собой отношение общего содержания вещества в организме к его концентрации в плазме крови при внутривенном введении:

$$V_d = \frac{D}{C_0}, \quad (1.1)$$

где D – введенная доза; C_0 – концентрация препарата в плазме крови. Объем распределения обычно больше объема плазмы крови, в которой в итоге растворилось лекарственное вещество, поскольку часть введенного вещества «захватывается» тканями, окружающими сосуды организма, и не остается в кровотоке. Если препарат активно поглощается, например, жировой тканью, его концентрация в крови может практически мгновенно стать очень низкой, а объем распределения достигнет нескольких сотен литров, превысив реальный объем плазмы крови. Несмотря на то, что объем распределения – фиктивная величина, этот показатель очень важен. Им определяется доля вещества, пребывающего во внутрисосудистом пространстве (точнее, в плазме крови). Объем распределения зависит от различных факторов, таких как физико-химические свойства препарата (молекулярная масса, полярность, растворимость в воде и жирах и др.) и физиологические характеристики пациента (возраст, пол, общее количество жира в организме). Например, у пожилых людей и новорожденных объем распределения снижен. Он может изменяться и при некоторых патологических состояниях, особенно при заболеваниях печени, почек, сердечно-сосудистой системы и т.д.

При инъекционном внутривенном введении лекарственные вещества поступают непосредственно в кровоток, при этом практически сразу же достигается максимальная концентрация ЛВ в крови и, как следствие, максимальный эффект, поэтому одномоментно внутривенно вводить сильнодействующие препараты опасно. Сразу после

одномоментного внутривенного введения концентрация ЛВ в крови начинает снижаться (рис. 4а), что соответствует процессам элиминации и метаболизма*.

При капельном введении (рис. 4б) происходит постепенное смешивание ЛВ с кровью. Соответственно, терапевтический эффект развивается медленнее, чем при быстром внутривенном введении. Поэтому вероятность развития побочных эффектов, связанных с передозировкой препарата, меньше. Кроме того, всегда можно прекратить лечение при непереносимости терапии.

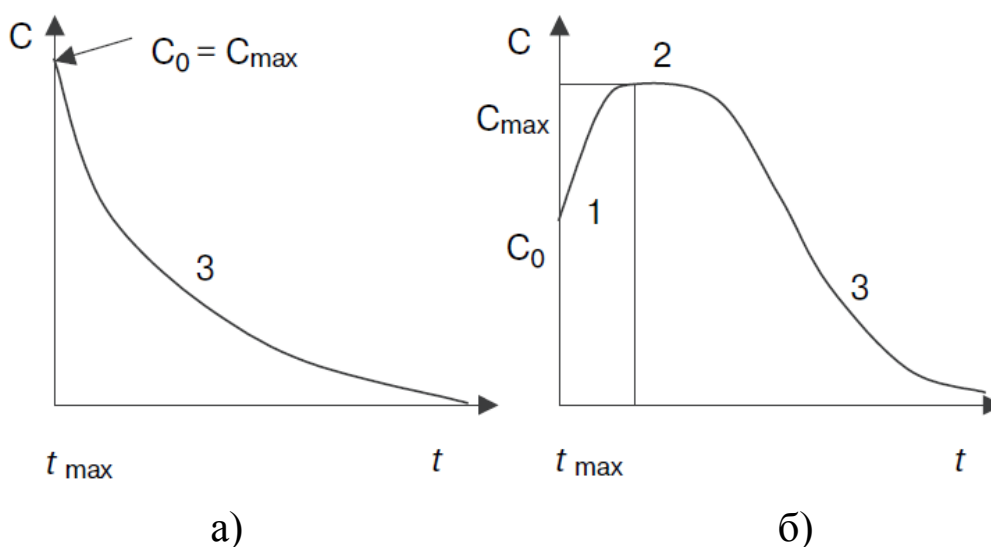


Рис. 4. Схема изменения концентрации гипотетического лекарственного вещества в плазме крови после его внутривенного введения: а) – одномоментное введение, б) – капельное введение: 1 – накопление лекарственного вещества; 2 – стационарная концентрация; 3 – снижение концентрации [2]

Объём распределения используют при подборе режима дозирования для расчёта *нагрузочной дозы (НД)*:

*Элиминация – процесс выведения вещества из организма. Метаболизм – процесс обмена веществ в организме.

$$HD = V_d \cdot C_{эфф}, \quad (1.2)$$

где V_d – объем распределения; $C_{эфф}$ – эффективная концентрация ЛВ в крови.

Нагрузочная доза – это доза, требуемая для достижения необходимой концентрации препарата в крови.

Общий клиренс Cl (мл/мин, л/ч) – объём плазмы или крови, который полностью очищается от препарата за единицу времени.

В связи с тем, что основные пути выведения ЛВ из организма – это почки и печень, общий клиренс представляет собой сумму почечного и печёночного клиренсов. Почечный клиренс отражает выведение препарата с мочой. Печёночный клиренс характеризуется метаболической инактивацией лекарственного вещества в печени – метаболический клиренс, и выведением препарата с жёлчью (жёлчный клиренс). Например, почечный клиренс циметидина составляет 600 мл/мин, метаболический – 200 мл/мин и жёлчный – 10 мл/мин, поэтому общий клиренс равен 810 мл/мин. Другие пути выведения или внепечёночный метаболизм при оценке общего клиренса во внимание обычно не принимают (см., например, «Справочник химика 21» <https://www.chem21.info/>). Основные физиологические факторы, определяющие клиренс:

- функциональное состояние основных физиологических систем организма,
- объём притока крови,
- скорость кровотока в органе.

Для печени клиренс определяют по скорости печёночного кровотока или функциональной способности метаболизирующих ферментов. Например, клиренс лидокаина, который интенсивно метаболизируется ферментами печени, зависит, прежде всего, от скорости его доставки к печени, т.е. от объёма притекающей крови, скорости кровотока. Именно поэтому при снижении печёночного кровотока в результате застойной сердечной недостаточности клиренс лидокаина

уменьшен. В то же время, клиренс фенотиазинов зависит, в основном, от функционального состояния метаболизирующих ферментов, поэтому при поражении гепатоцитов клиренс препаратов резко снижается, их концентрация в крови значительно возрастает [2].

Существует множество органов и систем, которые экскретируют* лекарственные вещества из организма, превращая их из активных соединений в неактивные. В результате совокупности процессов метаболизма и выведения концентрация лекарственного вещества в плазме крови снижается (рис. 5), что приводит к уменьшению его терапевтического действия. В том случае, если необходимо пролонгирование терапевтического эффекта, в период снижения концентрации лекарственного препарата в плазме крови препарат назначают повторно [1].

Константа скорости элиминации k_{el} (t^{-1}) – доля снижения концентрации вещества за единицу времени (отражает долю препарата, выводимую из организма за единицу времени).

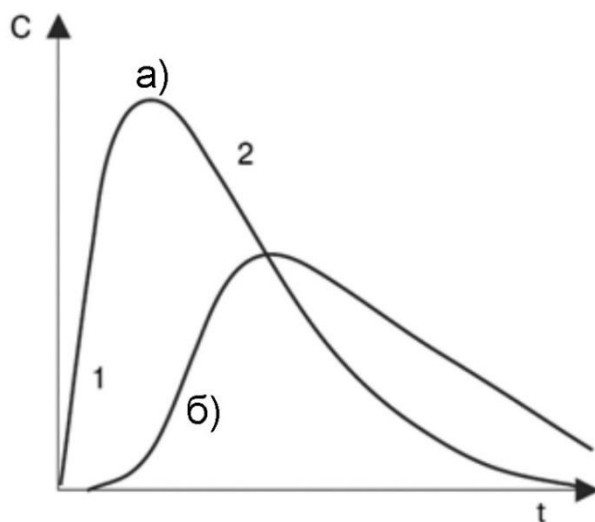


Рис. 5. Изменение концентрации: а) – гипотетического лекарственного препарата и б) – его метаболита в плазме крови:
1 – всасывание (отсутствует при внутривенном введении),
2 – метаболизм и экскреция [1]

*Экскреция – выведение из организма веществ, которые образовались в процессе метаболизма.

В простейшем случае скорость уменьшения концентрации лекарственного вещества в плазме крови пропорциональна его концентрации C в данный момент времени [1]:

$$\frac{dC}{dt} = -k_{el} C. \quad (1.3)$$

Общий клиренс Cl , объём распределения V_d и константа элиминации k_{el} связаны между собой уравнением:

$$Cl = V_d \cdot k_{el}. \quad (1.4)$$

Константа скорости элиминации k_{el} характеризует суммарную интенсивность процессов метаболизма и экскреции лекарственного вещества. Однако на практике чаще используется величина, обратно пропорциональная константе скорости элиминации, называемая временем (периодом) полувыведения ЛВ из организма. *Период полувыведения $T_{1/2}$ (ч)* – это время, необходимое для снижения концентрации ЛВ в два раза. Таким образом, период полувыведения $T_{1/2}$ и константа скорости элиминации k_{el} связаны между собой соотношением [2]:

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{k_{el}}. \quad (1.5)$$

На величину $T_{1/2}$ ориентируются, назначая препарат повторно при длительной терапии.

Зависимость между периодом полувыведения и константой скорости элиминации важна для выбора интервала между дозами, а также для определения промежутка времени, необходимого для достижения равновесной концентрации (обычно $5-7 T_{1/2}$) при многократном введении ЛС.

Если ЛС вводят в постоянной дозе через фиксированные интервалы времени меньшие, чем время выведения препарата, то его концентрация в крови возрастает, а затем наступает период, когда в каждом интервале между приёмом очередных доз ЛС количество всасывающегося препарата равно количеству элиминируемого. Это состояние называется «стационарным» (более соответствует физике явлений переноса) или равновесным (Steady state), а концентрация, достигнутая при этом, – «равновесная» концентрация C_{ss} (такой термин распространён в литературе по фармакологии). В результате, концентрация ЛС колеблется вблизи некоторой средней величины C_{ss} , ограниченной максимальным (C_{ssmax}) и минимальным значениями (C_{ssmin}).

Именно при установлении равновесной концентрации клинический эффект препарата проявляется максимально. Чем короче период полувыведения соединения, тем быстрее достигается равновесная концентрация и тем более выражены будут её колебания. Например, прокаинамид имеет период полувыведения около 2–3 ч, и его равновесная концентрация характеризуется большим разбросом значений при его назначении через каждые 6 ч, поэтому для предупреждения и уменьшения указанных колебаний равновесной концентрации в крови в последнее время всё шире используют препараты с пролонгированным высвобождением.

На практике равновесную концентрацию ЛС можно вычислить по концентрации данного препарата после однократного введения с помощью следующей формулы:

$$C_{ss} = \frac{1,4 \cdot F \cdot D \cdot T_{1/2}}{V_d \cdot \tau}, \quad (1.6)$$

где τ – интервал времени между вводимыми однократными дозами; D – введенная доза; $T_{1/2}$ – период полувыведения; V_d – объем распределения; F – биодоступность, представляющая собой часть дозы препарата, достигшую системного кровотока, после его внесосудистого введения.

При расчёте дозы, необходимой для поддержания нужной концентрации ЛС в крови, так называемой поддерживающей дозы, используют параметр, называемый скоростью инфузии (введения) Q :

$$Q = Cl \cdot C_{ss}. \quad (1.7)$$

Необходимо отметить, что на практике врачу, как правило, не требуется рассчитывать значения основных фармакокинетических параметров, так как их приводят в Инструкциях по применению ЛС, а также в различных справочниках. Однако врач должен уметь с их помощью подобрать режим дозирования конкретному пациенту с целью повышения эффективности и безопасности фармакотерапии [2].

Основные фармакокинетические параметры и их клинические предназначения сведены в таблицу 1.

Таблица 1

Основные фармакокинетические параметры [2]

Параметр	Ед. изм.	Определение	Клиническое предназначение
Период полувыведения $T_{1/2}$	ч, мин, дни	Время, необходимое для снижения концентрации в плазме крови на 50%.	Служит для определения промежутка времени, необходимого для достижения равновесной концентрации (3–5 $T_{1/2}$).
Объем распределения V_d	л (л/кг)	Гипотетический объём жидкости организма, необходимый для равномерного распределения введённой дозы в концентрации, соответствующей концентрации в плазме крови.	Служит для подбора нагрузочной дозы, необходимой для создания эффективной концентрации в плазме.

Продолжение таблицы 1

Параметр	Ед. изм.	Определение	Клиническое предназначение
Клиренс Cl	л/ч (л/ч·кг) л/мин (л/мин·кг)	Объём крови, который полностью очищается от препарата за единицу времени.	Служит для подбора поддерживающей дозы, позволяющей достичь равновесной концентрации в крови. Параметр «клиренс» более пригоден для оценки выведения ЛС, чем период полувыведения.
Равновесная концентрация C_{ss}	мкг/мл, мг/л	Концентрация ЛС в крови в стационарном состоянии (когда количество всасываемого препарата равно количеству элиминируемого).	На фоне равновесной концентрации обычно развивается стабильный клинический эффект ЛС.
Время наступления максимальной концентрации T_{max}	ч, мин	Время, за которое концентрации ЛС в крови достигает максимального значения.	Служит для прогнозирования времени, через которое развивается максимальный фармакологический эффект ЛС.
Биодоступность F	%	Часть дозы препарата, достигшая системного кровотока, после его внесосудистого введения.	Служит для подбора дозировки ЛС для перорального приема.

Ниже представлен пример расчёта режима дозирования.

Врачу необходимо подобрать скорость инфузии теофиллина (препарат от бронхита), а также дальнейшую дозу для поддержания эффективной концентрации при приёме препарата через 12 ч, 8 ч и 1 раз в сутки. Известно, что клиренс теофиллина составляет 2,8 л/ч на 70 кг,

целевая (эффективная) концентрация – 10 мг/л, биодоступность препарата равна 0,96.

Используя приведённые выше формулы, получаем:

Скорость введения:

$$Q = Cl \cdot C_{ss} = 2,8 \text{ [л/ч]} \cdot 10 \text{ [мг/л]} = 28 \text{ [мг/ч]}.$$

Поддерживающая доза:

при интервале $\tau=12$ ч: $D = (D \cdot \tau)/F = (28 \cdot 12)/(0,96) = 350$ мг,

при интервале $\tau=8$ ч: $D = (D \cdot \tau)/F = (28 \cdot 8)/(0,96) = 233$ мг,

при интервале $\tau=24$ ч: $D = (D \cdot \tau)/F = (28 \cdot 24)/(0,96) = 700$ мг.

После введения ЛС переходит из места введения (например, желудочно-кишечный тракт, мышца) в кровь, которая разносит его по организму и доставляет в различные ткани органов и систем. Этот процесс обозначают термином абсорбция* – всасывание (рис. 6) [2].

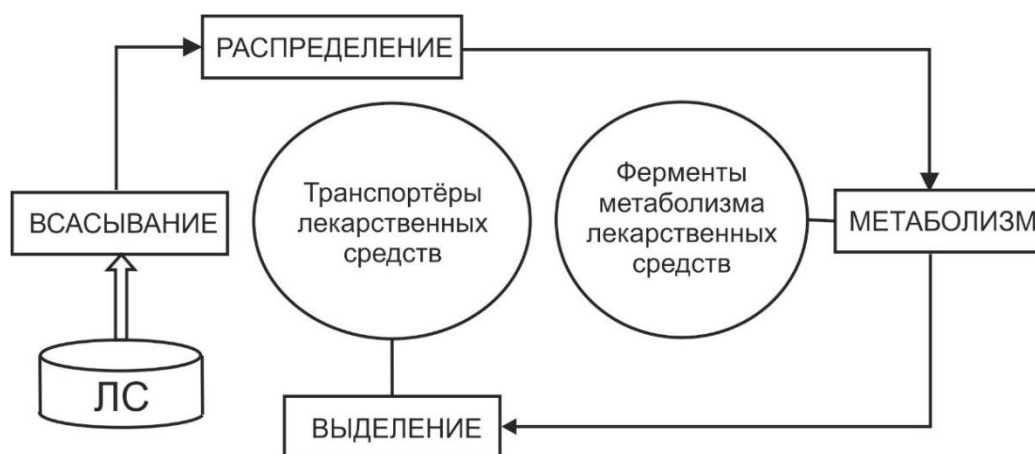


Рис. 6. Роль участников системы биотрансформации и транспортёров лекарственного средства в фармакокинетических процессах [2]

* Следует различать понятия абсорбции, адсорбции и сорбции. Сорбцией называют процесс поглощения твёрдым телом либо жидкостью различных веществ из окружающей среды. Поглощаемое вещество, находящееся в среде, называют сорбатом, поглощающее твёрдое тело или жидкость – сорбентом. По характеру поглощения сорбата сорбционные явления делятся на два типа: адсорбцию – концентрирование сорбата на поверхности раздела фаз или его поглощение поверхностным слоем сорбента, и абсорбцию – объёмное поглощение, при котором сорбат распределяется по всему объёму сорбента.

1.3. Всасывание, распределение и выведение лекарственных средств

Всасывание – это процесс поступления ЛС из места введения в кровь. Всасывание лекарственного вещества зависит от пути введения его в организм, лекарственной формы, физико-химических свойств (растворимости в липидах или гидрофильности вещества), а также от интенсивности кровотока в месте введения [3].

Механизмы, обеспечивающие всасывание лекарственных средств, подразделяются на пассивный и активный транспорт.

1.3.1. Пассивный транспорт

К механизмам пассивного транспорта ЛС относятся процессы переноса ЛВ, происходящие без затрат энергии: диффузия, фильтрация и осмос. В фармакокинетике различают пассивную и облегченную диффузию.

Пассивная диффузия – это перемещение ЛС через водные каналы в мембране либо посредством растворения в ней из мест с более высокой концентрацией в места, где его концентрация ниже, до полного уравнивания концентраций по обе стороны биомембраны без затрат энергии. Подобным образом всасываются липофильные вещества (например, барбитураты, бензодиазепины, метопролол и др.), причем, чем выше их липофильность*, тем активнее их проникновение через клеточную мембрану.

Облегчённая диффузия – это транспорт ЛС через биомембрану по градиенту концентрации с участием молекул – специфических переносчиков. Скорость переноса при этом значительно выше. Например, так всасывается цианокобаламин. В осуществлении его диффузии участвует специфический белок – гастромукопротеид (внутренний

* Липофильность – свойство вещества, характеризующее его сильное взаимодействие (сродство) с липидами.

фактор Кастла), образующийся в желудке. Если продукция этого соединения нарушена, то снижается всасывание цианокобаламина и, как следствие, развивается пернициозная анемия*.

Фильтрация и осмос – проникновение ЛС через поры в клеточной мембране в результате разности гидростатического или осмотического давления по обе её стороны.

Фильтрация осуществляется через поры клеточных мембран. Этот механизм пассивного всасывания идет без затраты энергии и осуществляется по градиенту концентрации и характерен для гидрофильных веществ (например, атенолол, лизиноприл и др.), а также ионизированных соединений.

Осмос – процесс прохождения молекул растворителя (воды) через полупроницаемую мембрану из области с меньшей концентрацией растворенного вещества в область с более высокой его концентрацией, продолжающийся до тех пор, пока концентрация растворенного вещества не выравняется по обе стороны мембраны. В результате такого движения внутри клетки создается значительное давление, которое называют осмотическим. Это давление может даже привести к разрушению клетки [4].

Схемы абсорбции ЛС с помощью пассивного транспорта приведены на рисунке 7.

* Анемия или малокровие – снижение концентрации гемоглобина в крови, чаще при одновременном уменьшении числа эритроцитов. Пернициозная анемия – заболевание, обусловленное нарушением кроветворения из-за недостатка в организме витамина В₁₂.

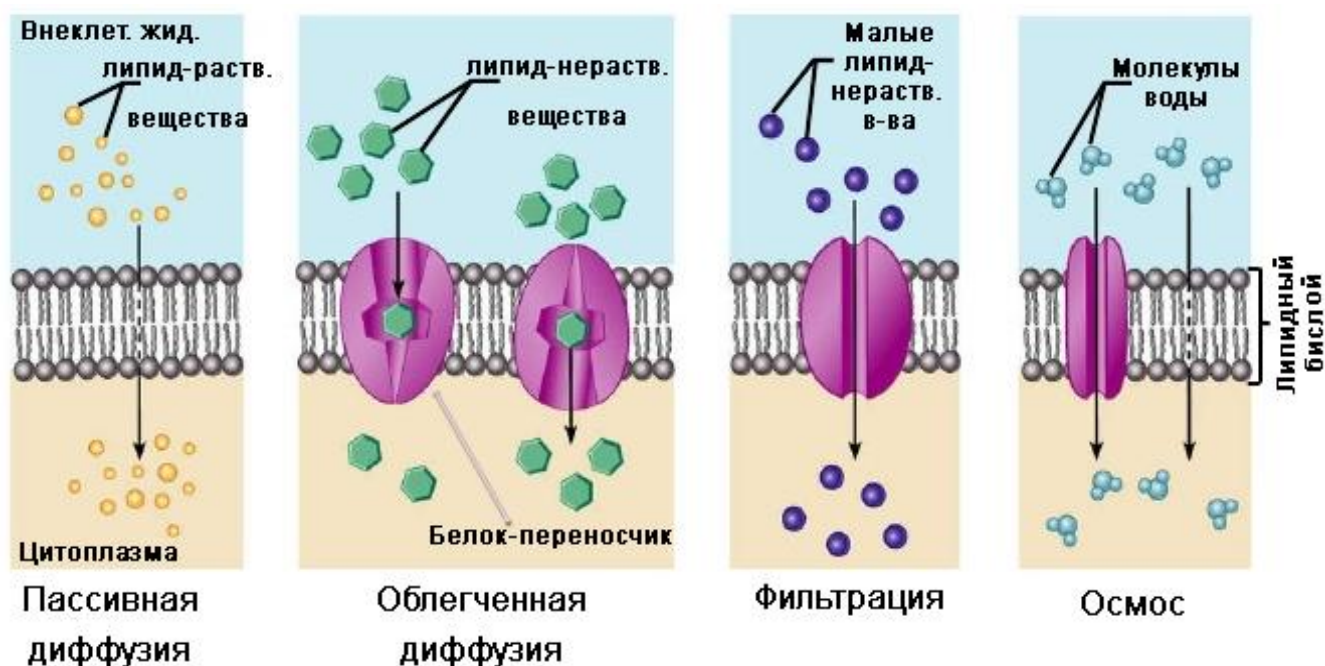


Рис. 7. Схемы пассивного транспорта ЛС [5]

1.3.2. Активный транспорт

Активный транспорт – это транспорт ЛС через клеточную мембрану посредством специфических транспортных систем в направлении, противоположном градиенту концентрации, требующий дополнительных затрат энергии. Таким образом, например, доставляется йод в фолликулы щитовидной железы.

Активный транспорт осуществляется с участием специфических белковых транспортных систем клеточных мембран. Именно эти механизмы являются основными для доставки в клетки питательных веществ и выведения продуктов обмена [4].

Примером активного транспорта является работа натрий–калиевого «насоса» (рис. 8). Активный транспорт осуществляется белками – переносчиками, расположенными в плазматической мембране. Этим белкам в отличие от тех, которые участвуют в облегченной

диффузии, для изменения их конформации* с целью «захвата» и «высвобождения» переносимых молекул требуется энергия. Поставляет эту энергию аденозинтрифосфат (АТФ), образующийся в процессе дыхания.

Белком – переносчиком в «натрий–калиевом насосе» является фермент натрий–калиевая аденозинтрифосфатаза (АТФ-аза)*, которая переносит ионы K^+ внутрь клетки, в то время как ионы Na^+ выводятся во внешнюю среду (рис. 8). На первой стадии (а) фермент присоединяет с внутренней стороны мембраны три иона Na^+ (АТФ, Р- фосфатный ион PO_4^{3-}). Эти ионы изменяют конформацию активного центра АТФ-азы. После этого фермент способен гидролизовать одну молекулу АТФ (превращается в аденозиндифосфат АДФ, стадия б). Выделившаяся после гидролиза энергия расходуется на обратимое изменение конформации переносчика, благодаря чему три иона Na^+ оказываются на внешней стороне мембраны (в). Здесь два иона Na^+ замещаются на два иона K^+ (г). После этого фермент возвращается в исходную конформацию, при этом фосфатный ион PO_4^{3-} и ионы K^+ оказываются на внутренней стороне мембраны (д). Здесь ионы K^+ отщепляются (е), и переносчик вновь готов к работе (1) [6,7].

*Конформация молекулы – пространственное расположение атомов в молекуле определенной конфигурации. При этом для одной конфигурации возможны несколько конформаций, переходы между которыми происходят без разрыва химических связей.

* Na^+/K^+ -АТФ-аза (Na^+/K^+ аденозинтрифосфатаза) – фермент из группы транспортных аденозинтрифосфатаз, содержащийся в плазматической мембране всех клеток животных и человека. Na^+/K^+ -АТФ-аза переносит ионы K^+ внутрь клетки, в то время как ионы Na^+ выбрасываются во внешнюю среду. Фермент не является настоящим антипортером, так как оба катиона транспортируются против электрохимического градиента (градиента потенциала). Основная функция – поддержание потенциала покоя и регулирование клеточного объёма.

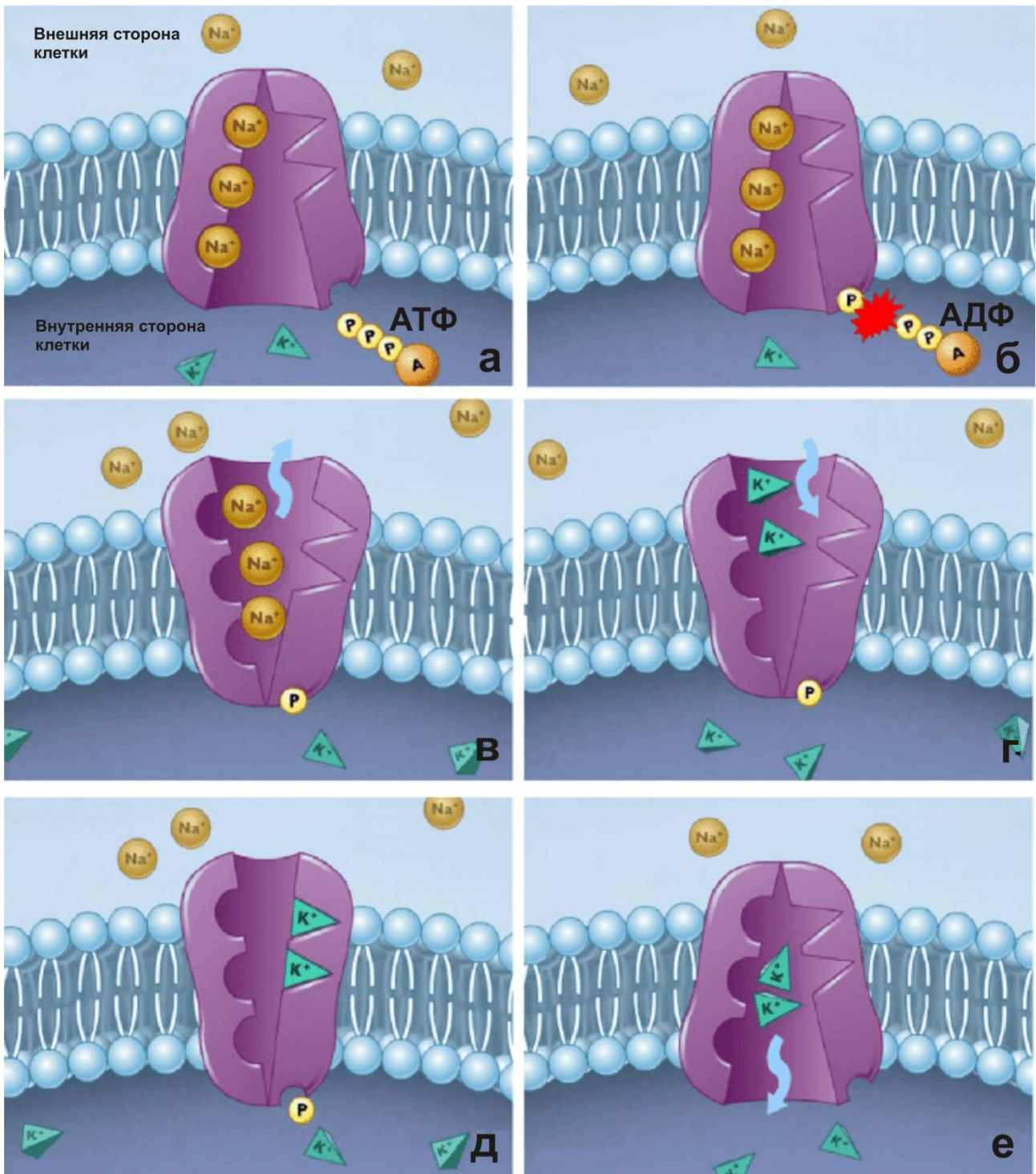


Рис. 8. Схема работы натрий–калиевого «насоса»,
детально описанная в работе [7]

Пиноцитоз представляет собой особый вид активного транспорта ЛС путём выпячивания и «охватывания» биомембраной ЛС и перемещения его внутрь клетки (поглощение мембранами ЛС с образованием везикул) (рис. 9). При этом происходит захват лекарственного

вещества и инвагинация* клеточной мембраны с образованием вакуоли, которая перемещается к противоположной стороне клетки, где происходит экзоцитоз* с высвобождением лекарственного соединения [4, 8].



Рис. 9. Схема пиноцитоза [8]

Попадая в системный кровоток, ЛС начинает распределяться по различным органам и тканям организма. Большинство лекарств распределяются по организму неравномерно. Характер распределения определяется многими условиями: растворимостью, комплексобразованием с белками плазмы крови, интенсивностью кровотока в отдельных органах и т.д. С учетом этого наибольшие концентрации лекарственного вещества после его абсорбции вначале создаются в органах, имеющих наиболее активное кровоснабжение, таких как сердце, печень, почки. Медленнее препараты проникают в мышцы, кожу, жировую ткань. Однако действие лекарственных веществ на тот или иной орган или ткань определяется, главным образом, не концентрацией ЛС, а чувствительностью рецепторов к ЛВ, так называемой

*Инвагинация – внедрение части какой-либо структуры (в данном случае клеточной мембраны) с образованием полости.

*Экзоцитоз – клеточный процесс, при котором внутриклеточные везикулы (мембранные пузырьки) сливаются с внешней клеточной мембраной.

аффинностью, или *сродством*. Аффинность – это способность вещества связываться с рецептором. Фактически это термодинамическая характеристика, количественно описывающая силу взаимодействия веществ. Сродство лекарственных веществ к биологическим субстратам и определяет специфичность их действия.

Попав в системный кровоток, ЛС присутствуют там в двух фракциях – свободной форме и связанной. Лекарства способны взаимодействовать и формировать комплексы с альбумином^{*}, в меньшей степени – с кислыми альфа1-гликопротеинами, липопротеинами, гамма-глобулинами и форменными элементами крови (эритроцитами и тромбоцитами). Связь лекарственного вещества с белками плазмы приводит к тому, что проникновение его в различные органы и ткани резко снижается, поскольку через клеточные мембраны проходит лишь свободный препарат. Лекарства, связанные с белками, не взаимодействуют с рецепторами, ферментами и не проникают через клеточные мембраны. Свободная и связанная фракции ЛС находятся в состоянии динамического равновесия – по мере снижения концентрации свободного вещества разрушается всё больше связей между связанным ЛС и белком, в результате вещество переходит в свободную форму, что позволяет проникать ему в различные органы и ткани и, как следствие, концентрация ЛВ в крови уменьшается.

Связывание лекарственных веществ с белками плазмы крови оказывает влияние на распределение их в организме, скорость и длительность действия. Если ЛС обладает низкой способностью к комплексообразованию с белками плазмы (<50%), оно быстро распределяется в организме, достигает того органа или системы, на который должно проявить свое действие, и вызывает достаточно быстрый терапевтический эффект. Однако подобные лекарства быстро выводятся из организма, с чем связано их непродолжительное действие. Напротив, вещества, обладающие высоким сродством к белкам плазмы (> 0%), долгое время циркулируют в кровеносном русле, плохо

* Альбумин – глобулярный белок плазмы крови, синтезируемый в печени.

и медленно проникают в ткани, и поэтому терапевтические уровни концентрации их в тканях создаются медленно и эффект развивается постепенно. В то же время, такие вещества медленно элиминируются из организма, тем самым обеспечивая продолжительное лечебное действие.

Выведение ЛС – это сложный процесс удаления лекарства из организма, включающий в себя его нейтрализацию (биотрансформацию или метаболизм) и собственно экскрецию.

Биотрансформация (метаболизм) – комплекс физико-химических и биологических превращений ЛС, в результате которого образуются гидрофильные соединения, легче выводимые из организма и, как правило, проявляющие менее выраженное фармакологическое действие (либо полностью его лишенные). Поэтому в процессе метаболизма лекарственные вещества обычно теряют свою активность, но становятся более удобными для удаления из организма почечной системой элиминации. Некоторые высокогидрофильные ионизированные соединения (например, хондроитин, глюкозамин и др.) могут не подвергаться в организме биотрансформации и выводятся в неизмененном виде.

В то же время, имеется небольшое количество препаратов, биотрансформация которых приводит к образованию более активных метаболитов, чем исходное соединение. Такие препараты, как отмечалось ранее, называются *пролекарствами*. К ним относятся вещества, которые превращаются в фармакологически активные ЛС только после пресистемного метаболизма* (примеры: дезлоратадин, фамцикло-вир, периндоприл и др.) [4].

*Пресистемный метаболизм – процесс биотрансформации лекарства, происходящий еще до того, как лекарство попадет в системный кровоток.

ГЛАВА 2. Системы доставки лекарственных средств

2.1. Классификация систем доставки лекарственных средств

Современные методы лечения заболеваний предполагают применение широкого арсенала традиционных лекарственных средств в разных формах: в виде капсул, таблеток, пластырей, инъекций и т.д. При их введении не удастся избежать разброса значений концентрации действующего вещества в месте действия, при этом возможна передозировка или, напротив, недостаточная доза лекарства. Это заставляет зарубежные и отечественные фирмы вкладывать огромные средства в поиск и разработку новых систем доставки лекарственных препаратов.

Макро-, микро- и наноразмерные системы [9] на основе биосовместимых материалов, соединённые с лекарственной формой, применяются для лечения тяжёлых заболеваний, включая сахарный диабет, туберкулёз, астму, опухоли различного происхождения и др. Целью разработки систем доставки лекарств является улучшение фармакокинетики и фармакодинамики лекарств, предотвращения токсичности, иммуногенности* органов-мишеней, чего не удастся достичь традиционными методами. Разработка систем доставки препаратов обусловлена необходимостью эффективного нацеливания препарата на очаг заболевания, повышения переносимости его пациентом и снижения стоимости медицинской помощи.

Система доставки лекарственных средств – это способ или устройство, которое позволяет вводить лекарственное вещество в организм пациента, повышая его эффективность и безопасность путем

*Иммуногенность – потенциальная способность антигена, вещества, которое организм рассматривает как чужеродное или потенциально опасное, вызывать иммунный ответ вне зависимости от его иммунной специфичности. Степень иммуногенности зависит от трех групп факторов: молекулярных особенностей антигена, кинетики антигена в организме, реактивности макроорганизма.

контролирования скорости введения, времени, а также места высвобождения лекарственного вещества в организме [1].

Процесс доставки лекарственного средства включает:

- ввод и распределение лекарственного средства;
- высвобождение активных веществ;
- последующую доставку лекарственного вещества через биологическую мембрану к месту действия.

Системы доставки лекарственных средств (СДЛС), как правило, представляют собой лекарственные формы, обеспечивающие пролонгированное высвобождение лекарства, в которых лекарственное вещество растворено или диспергировано* в массе полимера или защищено полимерной оболочкой.

Под лекарственной формой пролонгированного действия (синоним – дюрантного) подразумевают лекарственную форму, обладающую более продолжительным терапевтическим действием, чем другие лекарственные формы, содержащие те же ЛВ.

СДЛС разрабатываются с целью пролонгирования действия ЛВ от нескольких часов, суток до нескольких лет, обеспечения постоянной концентрации ЛВ в месте действия и создания максимального терапевтического эффекта, дешёвого и безопасного лечения больных и снижения побочного действия ЛВ за счёт уменьшения его дозы, экономии уникальных лекарственных препаратов.

Системы доставки классифицируют:

- 1) по размеру;
- 2) по биологическому действию;
- 3) по конструкции;
- 4) по кинетике выделения ЛВ;

* Диспергирование – тонкое измельчение твёрдых тел или жидкостей, в результате чего получают порошки, суспензии**, эмульсии***.

** Суспензия – смесь веществ, где твёрдое вещество распределено в виде мельчайших частиц в жидком веществе во взвешенном (неосевшем) состоянии.

*** Эмульсия – дисперсная система, состоящая из микроскопических капель одной жидкости, распределённых в другой жидкости. Типичный пример – система из двух несмешивающихся жидкостей.

- 5) по способу введения;
- 6) по месту применения;
- 7) по доставке ЛВ.

Рассмотрим каждую классификацию более подробно.

- 1) СДЛС по размеру подразделяются на следующие виды:
 - макроскопические;
 - микроскопические;
 - наноразмерные.
- 2) СДЛС по биологическому действию:
 - гипотензивные;
 - антиангинальные;
 - контрацептивные,
 - противоопухолевые и т.д.
- 3) СДЛС по конструкции:
 - матричные;
 - резервуарные (мембранные).

Самыми простыми и дешёвыми являются матричные СДЛС: ЛВ диспергировано во всём объёме полимера (моноконтинентные системы). Срок действия таких систем – от недель до года и более.

На рис. 10 показано высвобождение ЛВ из матричной СДЛС, в которой ЛВ и носитель гомогенно (однородно) перемешаны. Для диффузии ЛВ из матрицы (полимера) требуется длительное время. Место, скорость и время выделения ЛВ зависят от свойств полимера. Чаще всего ЛВ высвобождается за счёт диффузии через полимерную матрицу и ее деструкции. В качестве материала-носителя применяют неразрушаемые (силиконовый каучук, триацетатцеллюлоза, этиленвинилацетат) или биodeградирующие полимеры. Биodeградирующие полимеры могут быть биодеструктурирующими (альбумины, декстран, полилактоза, фибриноген) и биоэродирующими (поликарбонатовая кислота). Под биодеструкцией понимают быстрое проникновение внешней среды в полимер с последующим разрушением его структуры по всему объёму. Биоэродирующие полимеры подвержены поверхностному разрушению и последующему растворению олигомерных продуктов.

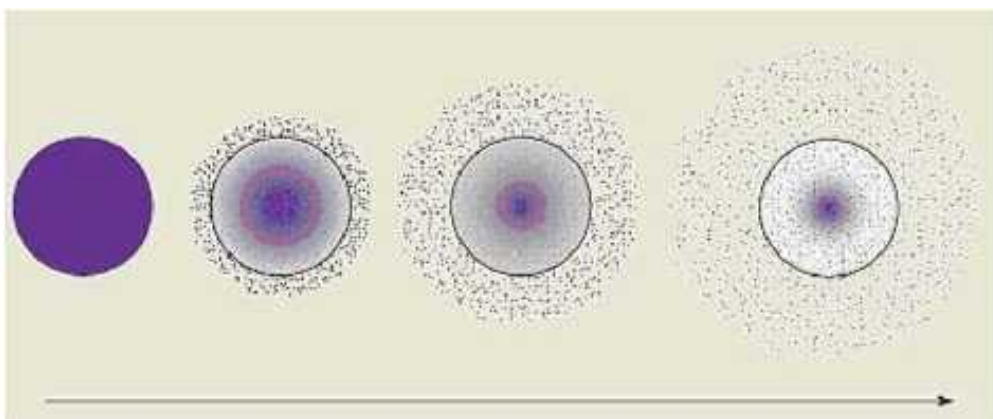


Рис. 10. Иллюстрация высвобождения ЛВ из матричной СДЛС [9]

В свою очередь, из резервуарной (мембранной) СДЛС лекарственное вещество высвобождается через плёнку или полимерную мембрану вследствие диффузии (рис. 11). Резервуар может содержать ЛВ в твёрдом состоянии, разбавленный или концентрированный раствор ЛВ. Плёнка имеет постоянные характеристики (биохимическая инертность; толщина; состав; пористость), что позволяет стабилизировать во времени выделение ЛВ в окружающую среду.

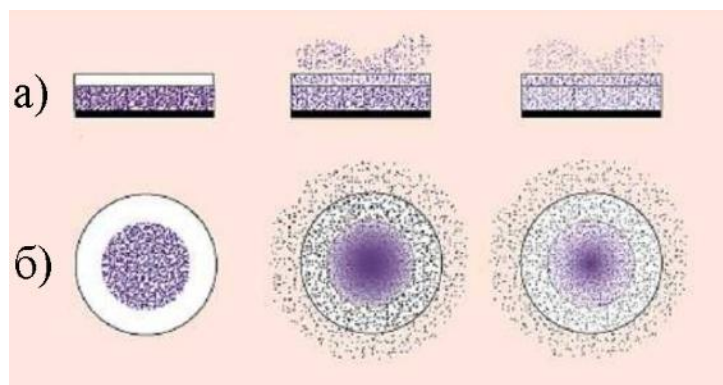


Рис. 11. Иллюстрация высвобождения лекарства из резервуарных СДЛС: а) – трансдермальная система; б) – имплантируемая система [9]

Мембрана изготавливается из биodeградирующих или полупроницаемых полимеров.

4) СДЛС по кинетике выделения ЛВ могут быть:

- диффузионно-контролируемые;
- активируемые растворителем;

- химически-контролируемые;
- самопрограммируемые.

В диффузионно-контролируемых СДЛС (рис. 12) ЛВ высвобождается по механизму диффузии через матрицу или мембрану.

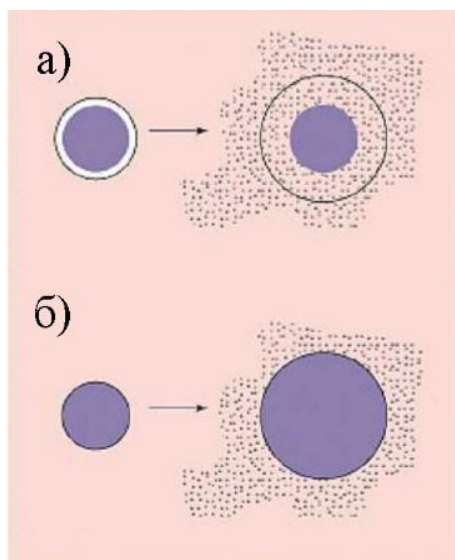


Рис. 12. Иллюстрация высвобождения лекарств из диффузионно-контролируемых матриц: а) – резервуарного типа; б) – матричного разбухающего типа [9]

Активируемые растворителем системы доставки ЛВ (рис. 12) работают благодаря диффузии растворителя в матрицу с последующим растворением ЛВ. Матрица может быть изготовлена, например, из набухающих сополимеров* (например, виниловый спирт с этиленом). Скорость выхода ЛВ зависит от скорости поступления в него внешней среды (растворителя).

* Соплимеры – разновидность полимеров, цепочки молекул которых состоят из двух или более различных структурных звеньев.

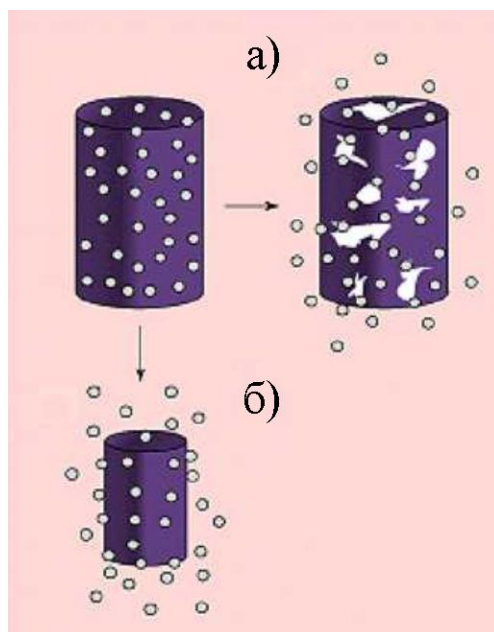


Рис. 13. Иллюстрация функционирования СДЛС на основе:
 а) – объёмно – растворимых и б) – поверхностно – растворимых
 материалов [9]

В химически-контролируемых СДЛС выход ЛВ определяется скоростью поверхностной деструкции полимера (рис. 13), природой и размером системы. Используемые полимеры должны выводиться из организма, быть гидрофобными*, не набухающими, не пористыми, инертными, а также дешёвыми. Продукты деструкции полимеров могут представлять собой низкомолекулярные вещества (НМВ), метаболизирующегося в организме, или высокомолекулярные вещества (ВМВ), не токсичные и выводящиеся из организма. В качестве таких полимеров применяются алифатические полиэфиры молочной и гликолевой кислот, полииминокарбонаты и полиортоэфиры.

К самопрограммирующимся («интеллектуальным») системам доставки относят системы, способные воспринимать дополнительный

*Гидрофобность – это физическое свойство молекулы, которая «стремится» избежать контакта с водой. Гидрофобные молекулы обычно неполярны и не способны образовывать водородные связи с молекулами воды, поэтому вода «отталкивает» такие молекулы, преимущественно образуя связи с соседними полярными молекулами воды.

внешний сигнал, управляющий высвобождением ЛВ из системы доставки. Дополнительный сигнал модулирует скорость высвобождения ЛВ из системы и приводит в действие механизм высвобождения ЛВ из пассивного устройства (рис. 14).

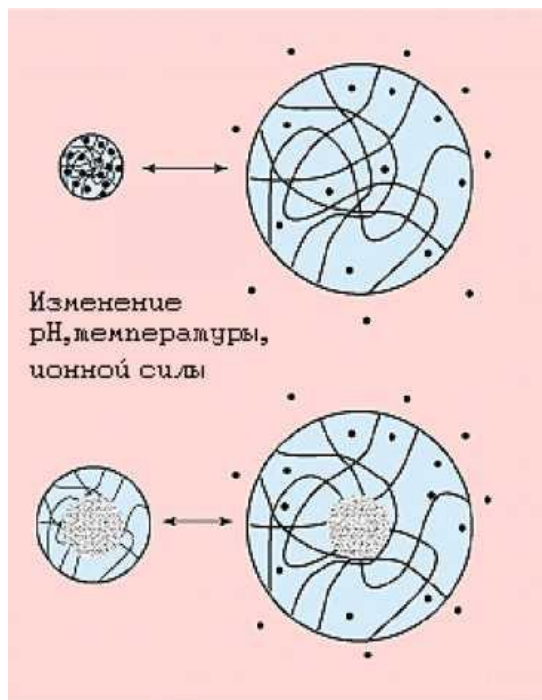


Рис. 14. Высвобождение ЛВ из системы доставки лекарств, чувствительных к окружению [9]

Высвобождением ЛВ можно управлять следующими способами:

- магнитным полем;
- ультразвуком;
- тепловым воздействием;
- с помощью рН среды;
- УФ – излучением;
- и др.

5) СДЛС по способу введения:

- имплантируемые (капсулы норплант, таблетки эспераль и т. д.);
- оральные (таблетки сустак, нитронг, микалит, орос);
- ректальные (осмет);
- буккальные (таблетки тринитролонга, леворина, эстрадиола, «букка» – щека);
- пластырные (трансдермальные терапевтические системы – скоподерм);
- инъекционные (липосомы, наночастицы).

6) СДЛС по месту применения:

- накожные;
- подкожные;
- внутripолостные;
- внутрисосудистые;
- внутрисуставные и т.д.

7) СДЛС по доставке ЛВ могут быть:

- с контролируемым высвобождением ЛВ;
- с направленной доставкой ЛВ.

Этапы развития технологии разработок и создания систем доставки лекарственного средства приведены в таблице 2 [9].

Материалы и технологии, применяемые в разные периоды для разработки систем доставки лекарственных веществ [9]

Год	Временная линейка целевой доставки лекарств
2005	Биомиметические полимеры
	Углеродные нанотрубки
	Полимерные нанокапсулы для доставки лекарств
	Система доставки лекарств по команде
	Саморегулирующиеся системы доставки, взаимодействующие с телом
2010	Вирусы и бактерии, созданные методами биоинженерии
	Терапевтические магнитные и парамагнитные наночастицы
	Терапевтические дендримеры
	Системы доставки терапевтических пептидов и протеинов (биофармацевтика)
2015	Наночастицы для имплантируемых приборов и инжиниринга тканей
	Клеточные и генные целевые системы
	Комбинированные системы лечения и получения медицинского изображения
	Мультиёмкие микрочипы для доставки лекарств

Для направленной и контролируемой доставки используются разнообразные системы адресной доставки и «самонаводящиеся» на нужный объект устройства, такие как [10]:

- стеклоподобные матрицы;
- моноклональные антитела (антитела, вырабатываемые иммунными клетками, принадлежащими к одному клеточному клону, то есть произошедшими из одной плазматической клетки – предшественницы);
- модифицированные эритроциты;
- микросферы;
- липосомы;

- другие более сложные системы, основанные на молекулярных механизмах, нанотехнологиях и генной инженерии.

В последующих главах эти системы рассматриваются более подробно.

2.2. Полимерные транспортеры для доставки лекарств

Один из наиболее распространенных подходов, применяемых в системах доставки лекарств, представляет собой использование полимерных «переносчиков» лекарств, которые доставляются в очаг заболевания и обеспечивают поступление ЛВ в орган – мишень в течение длительного времени с минимальным распространением лекарства по кровеносной системе организма. Полимеры, используемые в системах доставки, делятся на три группы [10]:

- недеградирующие полимеры;
- лекарственно – конъюгированные полимеры;
- биodeградирующие полимеры.

2.2.1. Недеградируемые полимеры

Недеградируемые полимеры представляют собой стабильные «контейнеры» лекарств, не подвергающиеся разрушению в организме. Как правило, они используются в качестве компонентов имплантируемых устройств доставки лекарств. В частности, их широко применяют для внутриглазной доставки лекарств [11].

К таким полимерам относятся: поливинилалкоголь (ПВА), винилацетат, этиленвинилацетат (ЭВА) или полисульфон (ПСФ). Имплантаты из ПВА, являющегося проницаемым полимером, и ЭВА, непроницаемого гидрофобного полимера, ограничивающего выделение препарата, применяют для доставки липофильных лекарственных веществ. Эти имплантаты инертны, не вызывают воспалительных реакций со стороны глазных структур, но требуют их удаления после

завершения периода выделения препарата для предотвращения фиброобразования и инкапсулирования устройства в полости глаза. Устройства на основе ПСФ являются водонепроницаемыми и содержат в своей конструкции макропустоты, увеличивающие площадь имплантата. Конструкция проницаема как для гидрофильных, так и для липофильных веществ.

Несмотря на увеличивающееся число исследований недеградируемых имплантатов, полученные результаты носят противоречивый характер. Их основным недостатком является отсутствие разрушения матрицы по мере отдачи фармпрепарата, в результате чего возникает необходимость их последующего удаления, что повышает риск развития послеоперационных осложнений. Кроме того, возможное образование фиброзной капсулы вокруг имплантата препятствует свободной диффузии лекарственного вещества, что ограничивает применение данных устройств [11].

2.2.2. Лекарственно–конъюгированные полимеры

В системах доставки лекарств, использующих лекарственно-конъюгированные полимеры, ЛВ присоединяется к водорастворимому полимерному переносчику с помощью химической связи. Препараты на их основе предназначены для введения в кровеносное русло в виде инъекций, поэтому чаще всего применяются хорошо изученные полимеры, входящие в состав кровезаменителей: декстран, поли-N-винилпирролидон, поли-N-(2-гидроксипропил)метакриламид, связанные своими функциональными группами с ЛВ [12]. Для придания таким полимерам оптимальных свойств в них вводятся лиофилизирующие группы, обеспечивающие растворимость системы в воде, и группировки – «векторы», которые способствуют доставке полимера в пораженный орган. Для исключения аккумуляции полимера-носителя в организме после выполнения лекарственной системой своей функции, в основную цепь полимера могут быть введены

гидролизующиеся группы, обеспечивающие ее распад в организме до легко выводимых фрагментов. Большой вклад в разработку таких лекарственных полимерных систем доставки внесли немецкий ученый Х. Рингсдорф и чешский ученый И. Копечек [13]. Поэтому часто модель такой сложной полимерной системы, содержащей в цепи звенья с различными структурными элементами, называют моделью «Рингсдорфа–Копечека» (рис. 15).

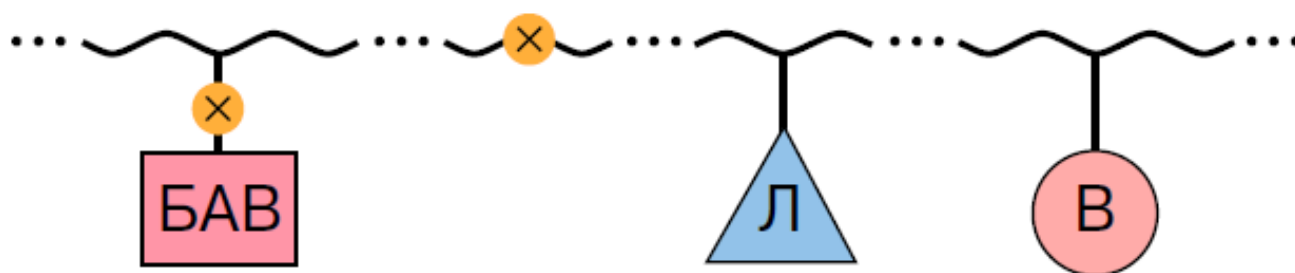


Рис. 15. Модель Рингсдорфа-Копечека: БАВ – биологически активное вещество (лекарство); Л – лиофилизирующая группа; В – группа – «вектор», х – гидролизующиеся группы [13]

Работы по созданию комплексов лекарств на основе синтетических и натуральных макромолекул были начаты примерно 60 лет назад [14, 15]. В частности, в начале 50-х годов прошлого века В. Яцкевич использовал дипептидный (GL: глицил-лейцил) фрагмент для присоединения лекарства (мескалин) к поливинилпирролидону [16]. Группа С. Ушакова синтезировала несколько водорастворимых полимеров – комплексов с лекарствами в 60–70-х гг., из которых в основном использовались поливинилпирролидон и различные антибиотики [17–19]. Группа Г. Матэ была первой, предложившей применять комплексы лекарств с иммуноглобулином, тем самым положив начало новой эре в развитии систем доставки лекарств [20]. С. Де Дюв установил, что многие ферменты находятся в лизосомных

отделах клеток^{*}, а также открыл лизосомотропизм макромолекул [21]. Наконец, Х. Рингсдорфом была представлена четкая концепция использования полимеров для адресной доставки лекарств (1975 г.) [22].

Рассмотрим несколько примеров систем адресной доставки лекарств на основе модели Рингсдорфа–Копечека. Сополимеры N-(2-гидроксипропил) метакриламида (ГПМА), сопряженные с циклопамином, используются в терапии рака простаты (рис. 16). Стволовые раковые клетки являются недифференцированными клетками, обладающими способностью к самообновлению и превращению в специфические клетки различных опухолей. Как следствие, они способны генерировать непрерывно растущую опухоль. Сложность в уничтожении таких клеток вызвана их резистентностью к терапевтическим воздействиям, направленным на дифференцированные клетки-мишени. В связи с этим И. Копечек и соавт. [23] было предложено проводить терапию рака простаты с использованием двух полимерных препаратов, один из которых нацелен на стволовые раковые клетки, а другой – на дифференцированные клетки. В качестве первого лекарства был предложен конъюгат^{**} сополимер ГПМА-циклопамин. Циклопамин представляет собой натуральный стероидный алкалоид, который ингибирует так называемый путь Hedgehog (Hh), ответственный за поддержание популяции стволовых клеток, напрямую связываясь со специфическим мембранным рецептором, снижая его активность, что в конечном итоге приводит к гибели стволовой клетки. Доцетаксел традиционно применяется в химиотерапии и использование его конъюгата с сополимером ГПМА позволяет уничтожать дифференцированные стволовые клетки.

^{*} Лизосома – окружённый мембраной клеточный органоид, в полости которого поддерживается кислая среда и находится множество растворимых гидролитических ферментов. Лизосома является одним из видов везикул и относится к эндомембранной системе клетки.

^{**} Конъюгат – искусственно синтезированная гибридная молекула, в которой химически соединены две молекулы с разными свойствами.

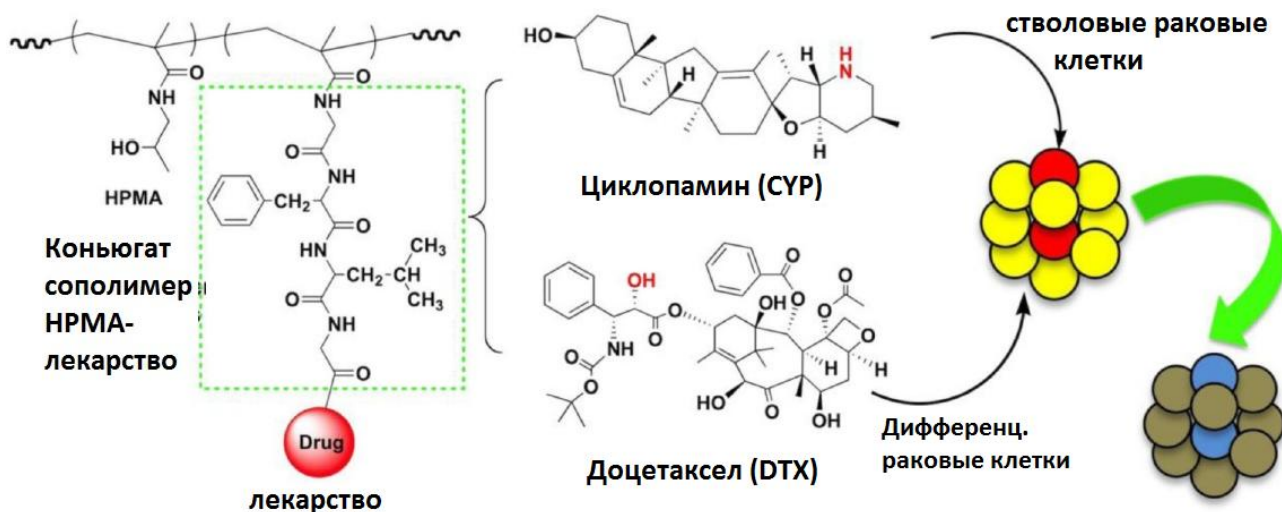


Рис. 16. Сополимеры N-(2-гидроксипропил) метакриламида, сопряженные с циклопамином и доцетакселом [23]

Конъюгаты сополимеров ГПМА с лекарствами используются также и для лечения других заболеваний. Например, для лечения остеопороза и заболеваний опорно-двигательного аппарата был разработан нацеленный на костную ткань сополимер ГПМА, конъюгированный с костным анаболическим агентом (простагландин E_1 (PGE_1)) [23] (рис. 17). Биораспознавание конъюгатов в такой системе обеспечивается октапептидом D-аспаргиновой кислоты ($D-Asp_8$) или алендронатом. Подобная система обладает возможностью доставки анаболического агента* (PGE_1) адресно к твердым тканям (кости, зубы) после системного введения. Очевидно, что аналогичная концепция может использоваться для адресной доставки лекарств к метастазам при раке кости [24–27].

* Анаболические средства – вещества, ускоряющие образование и обновление структурных частей клеток, тканей и мышечных структур.

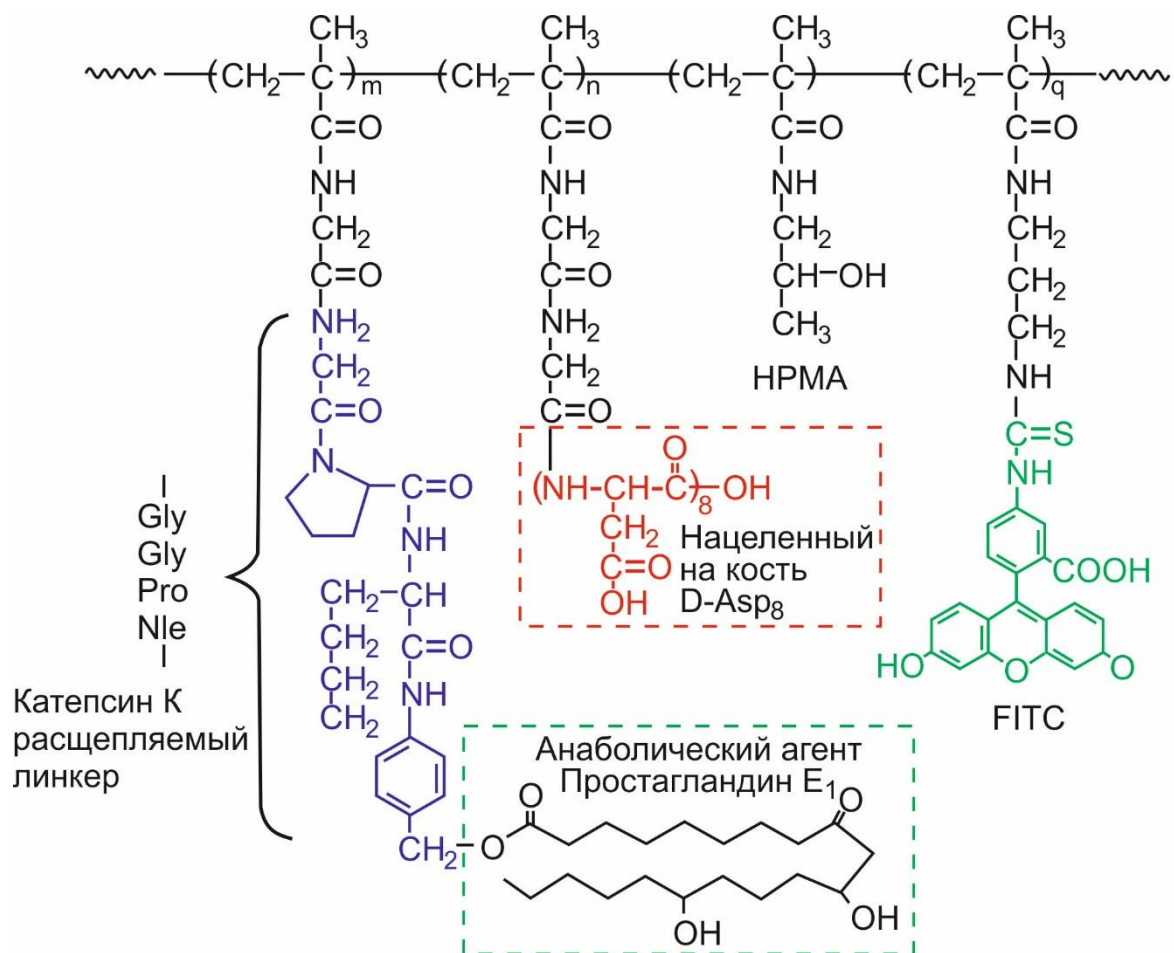


Рис. 17. Нацеленный на костную ткань сополимер ГПМА, конъюгированный с костным анаболическим агентом (простагландин E₁, PGE₁) [23]

Еще одним перспективным направлением применения конъюгатов полимеров с лекарством является включение в полимерную систему доставки ЛВ в качестве «подвесных» групп (pendant groups – «подвески») β-циклодекстринов (β-ЦД) (рис. 18), позволяющих модифицировать механизм высвобождения лекарства [28, 29]. Как известно, циклодекстрины это циклические олигосахариды, состоящие из α-1,4-D-глюкопиранозных единиц с внутренними гидрофобными полостями. Такая структура дает возможность включать молекулы ЛВ в систему доставки без образования ковалентных связей. Авторы [30] синтезировали полимеры с β-ЦД «подвесками» и исследовали контролируемое высвобождение ЛВ из гидрогелей, полученных

сополимеризацией* моновинилциклодекстринового мономера и 2-гидроксиэтилакрилата (рис. 19). В частности, гидрогель поли(2-гидроксиэтилакрилата) (ПГЭА), сополимер с β -циклодекстрином, был использован ими для адресной доставки мелатонина (снотворное). Скорость высвобождения ЛВ при этом можно регулировать изменением количества β -циклодекстрина.

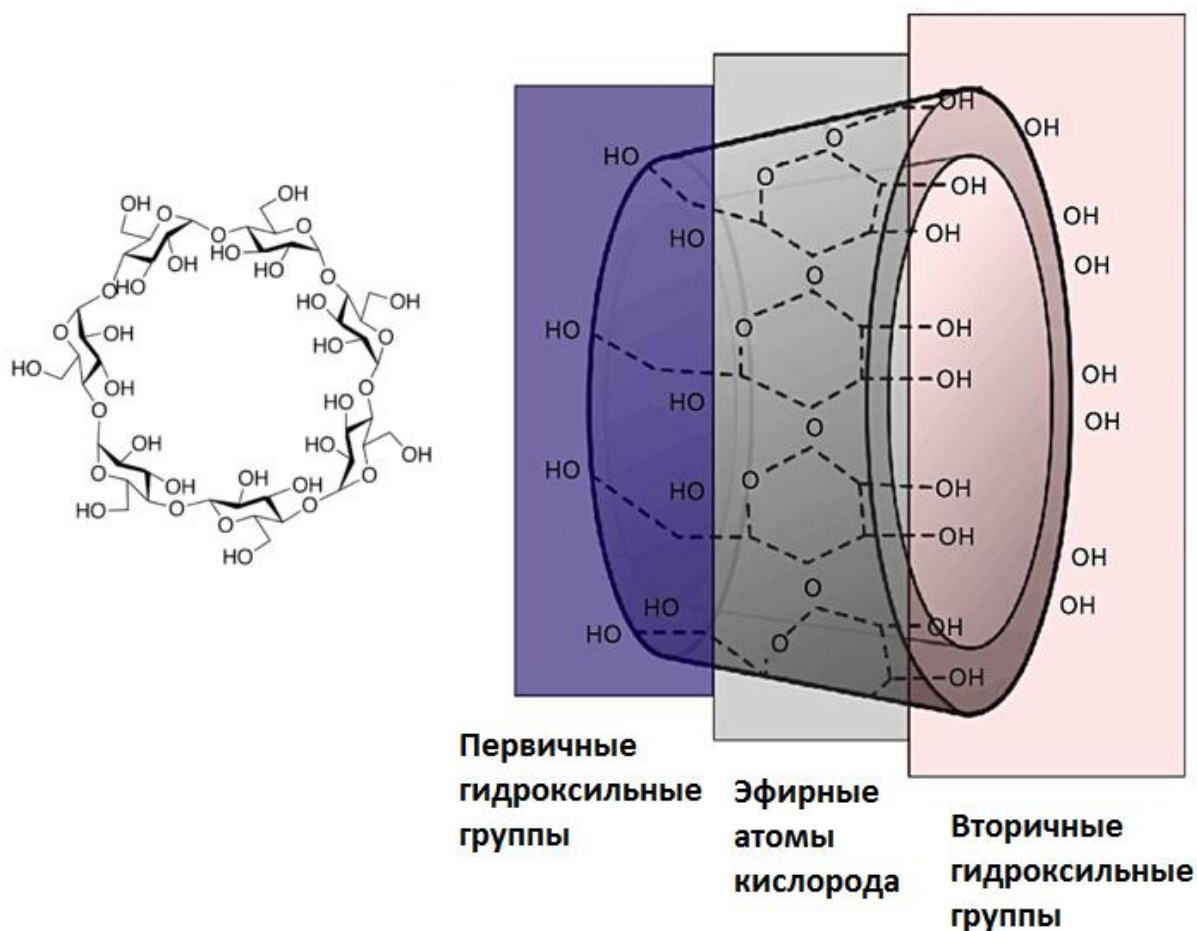


Рис. 18. β -циклодекстрин [29]

*Сополимеризация – полимеризация, в которой участвуют два или несколько различных мономеров. В результате сополимеризации образуются сополимеры, макромолекулы которых состоят из двух или более разнородных структурных звеньев.

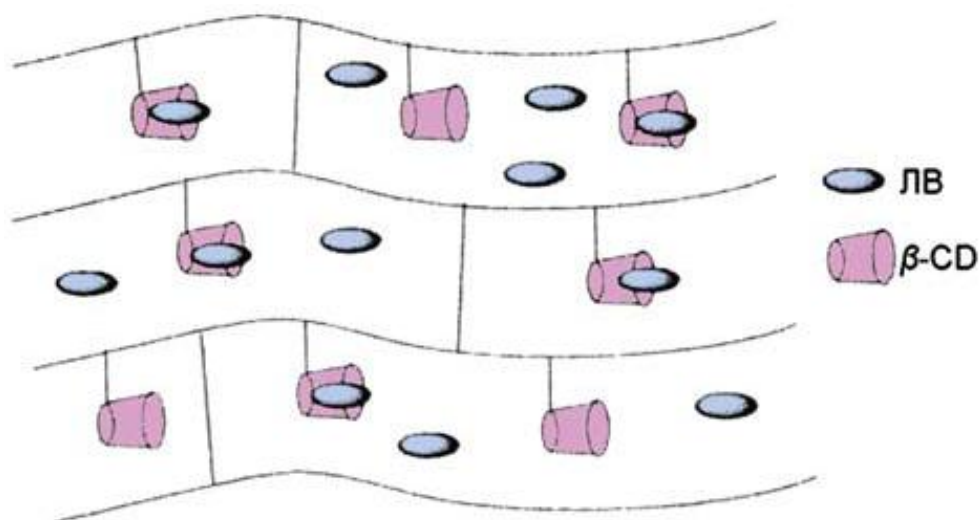


Рис. 19. Схема высвобождения ЛВ из гидрогеля с β -ЦД «подвесками» [30, 12]

2.2.3. Биodeградирующие полимеры

Биodeградирующие полимеры [31–35] в биологических условиях превращаются в нетоксичные продукты (деградируют) и выводятся из организма. Закономерности биodeструкции полимеров определяются их химической, пространственной и надмолекулярной структурой и должны рассматриваться для каждого вида полимеров отдельно. Основными факторами, определяющими биodeструкцию полимеров, являются [31]:

- химический состав, в том числе соотношение звеньев мономеров в сополимерах и содержание остаточных мономеров;
- молекулярная масса полимера;
- структура полимера (частично кристаллическая или аморфная). Важнейшими характеристиками частично кристаллического полимера, определяющими его технологичность, являются степень кристалличности (отношение объема кристаллической фазы к общему объему полимера), температура

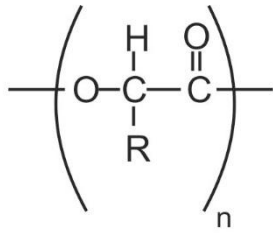
стеклования (T_g) аморфной фазы и температура плавления (T_m) кристаллической фазы;

- размер микрочастиц, а именно, площадь поверхности полимера, изначально контактирующая со средой;
- растворимость и рН среды – для полимеров, деструкция которых катализируется кислотой или основанием (например, гидролиз полимолочной кислоты, сополимеров молочной и гликолевой кислот, полиангидридов, сложных полиортоэфиров и др.);
- температура среды;
- прочие условия деструкции (например, возможное влияние лекарственного вещества, действие ультразвука, электростатического поля или места введения в орган-мишень).

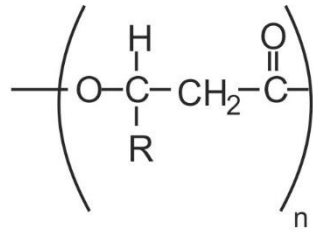
Считается, что деструкция полимеров *in vivo* происходит быстрее, чем *in vitro*, в частности, благодаря влиянию биологически активных веществ (например, липидов), а также из-за формирования иммунологического ответа. Следует отметить, что эта тенденция неоднозначна: так, Реюнинг и др. [32] приводят данные, иллюстрирующие обратную зависимость: скорость высвобождения налтрексона из сополимера молочной и гликолевой кислот в организме обезьяны в общем случае ниже, чем *in vitro*.

Наибольшее распространение в фармацевтике получили биодеструктурирующие полимеры, представленные на рис. 20 [31].

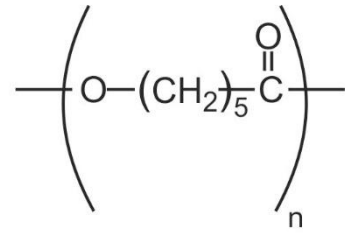
Сложные полиэфиры



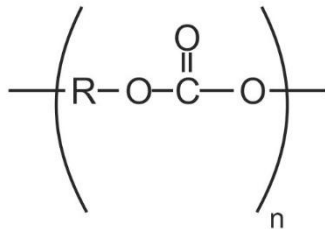
поли- α -гидроксиэфиры



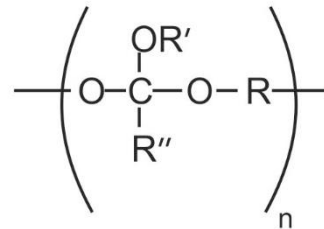
поли- β -гидроксиэфиры



поли- ϵ -капролактон

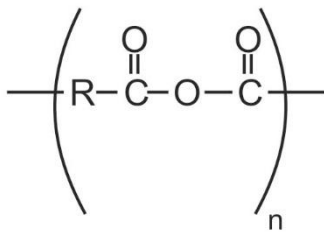


поликарбонаты

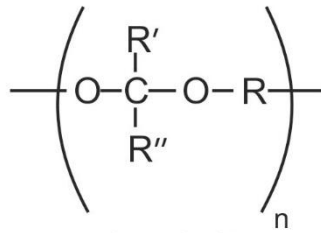


поликортоэфиры

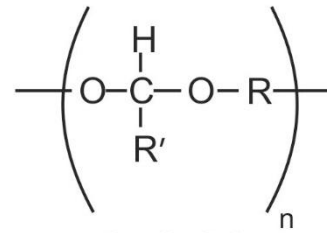
Полиангидриды



Простые полиэфиры

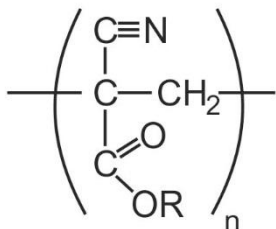


поликетали

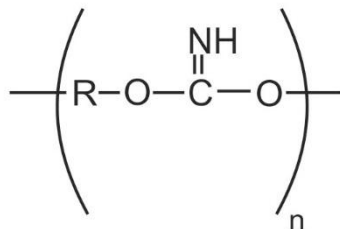


полиацетали

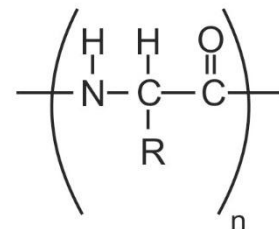
Азот- и фосфорсодержащие полимеры



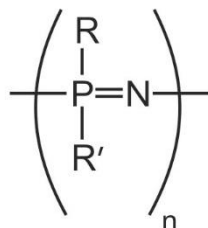
полицианоакрилаты



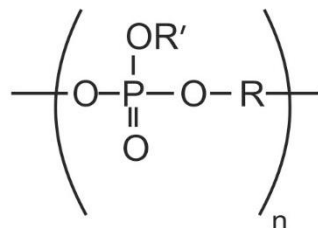
полиаминокарбонаты



полиаминокислоты
и полипептиды



полифосфазены



сложные полиэфирфосфаты

Рис. 20. Биодеструктурирующие полимеры [31]

Разрушение полимерных имплантатов является следствием двух физических процессов: растворения и диффузии. В связи с этим различают два основных механизма биоразрушения: поверхностный (гетерогенный) и объемный (гомогенный).

При поверхностном разрушении гидролиз полимера происходит, в основном, на его границе с внешней средой, тогда как диффузия молекул среды внутрь объема полимера и какие-либо другие процессы там отсутствуют. Кинетика высвобождения активного вещества при поверхностном разрушении описывается уравнением первого порядка, т.е. скорость изменения концентрации прямо пропорциональна концентрации лекарства. Зависимость изменения концентрации вещества от времени характеризуется высокой воспроизводимостью, поэтому поверхностное разрушение имплантата считается желательным механизмом. Степень разрушения при этом можно изменять простым изменением площади поверхности микрочастицы: при идеальном поверхностном разрушении его скорость прямо пропорциональна площади поверхности.

При объемном разрушении молекулы внешней среды проникают в полимерную матрицу быстрее, чем происходит деструкция. Вследствие этого гидролиз полимера протекает и на его поверхности, и в объеме, а активное вещество высвобождается за счет одновременного протекания процессов диффузии и растворения. Проницаемость полимера для высвобождения лекарственного вещества в этом случае растет со временем, причем такой рост трудно прогнозировать. Поэтому скорость высвобождения активного вещества при объемном разрушении имплантата может изменяться непредсказуемым образом. Кроме того, полимерная матрица может разрушиться на части еще до полного выхода из нее активного вещества, что является одной из причин «взрывного эффекта» при высвобождении. Следует отметить, что большинство полимеров, способных к биодеструкции и используемых для контролируемого высвобождения лекарственных веществ, подвержены именно объемному механизму разрушения.

Поверхностному разрушению более подвержены имплантаты на основе таких полимеров, как полиангидриды и сложные полиортоэфиры, а полимолочной кислоте и сополимерам молочной и гликолевой кислот, наоборот, свойственно объемное разрушение. Некоторые активные вещества могут изменять тип разрушения полимерной матрицы: например, галоперидол меняет объемный механизм разрушения имплантата на основе сополимера молочной и гликолевой кислот на поверхностный. С другой стороны, тип разрушения имплантата может зависеть и от характеристик внешней среды: так, поверхностному механизму разрушения микрочастиц на основе полимолочной кислоты весьма способствует увеличение концентрации КСl в водном растворе. Вероятно, этот эффект обусловлен усилением гидролиза полимолочной кислоты в данных условиях.

Выбор полимера в качестве носителя лекарственного вещества определяется требуемой скоростью высвобождения последнего, в значительной мере, зависящей от физических свойств полимера. Для получения носителя с требуемым комплексом свойств часто используют сополимеры, в которых сочетаются характеристики мономерных звеньев разной природы.

Существенной характеристикой полимера являются его гидрофильно – гидрофобные свойства. Известно, что биодеструкции могут подвергаться как гидрофильные, так и гидрофобные полимеры [34]. Гидрофильные биодеструктируемые полимеры – относительно высокомолекулярные продукты ($> 50\text{--}60$ кДа^{*}). Вследствие разрыва химических связей и благодаря сильному взаимодействию с водой, в раствор (среду) при деструкции способны переходить достаточно крупные молекулы, что осложняет их участие в обмене веществ. Поэтому

* Дальтон (Da, Da) – Атомная единица массы (русское обозначение: а.е.м.; международное: u), она же углеродная единица – внесистемная единица массы, применяемая для масс молекул, атомов, атомных ядер и элементарных частиц. Атомная единица массы определяется как $\frac{1}{12}$ массы свободного покоящегося атома углерода ^{12}C , находящегося в основном состоянии, приблизительно равен $1,66 \cdot 10^{-27}$ кг.

для создания систем доставки лекарственных средств более предпочтительны гидрофобные полимеры, распадающиеся в организме на малые водорастворимые молекулы. Следует отметить, что изделиям на основе гидрофильных полимеров свойственно объемное разрушение, а гидрофобным – и объемное, и поверхностное.

Наиболее часто для создания систем доставки лекарства пролонгированного действия используют сложные полиэферы. Они легко подвергаются деструкции вследствие гидролиза сложноэфирной связи, продукты гидролиза выводятся, включаясь в метаболизм, а скорость гидролиза можно регулировать за счет изменения химического состава и структуры полимера [35]. В свою очередь, наибольшее внимание среди сложных полиэфиров привлекают сложные алифатические полиэферы: полимолочная и полигликолевая кислоты, а также сополимеры молочной и гликолевой кислот, обладающие хорошей биодеструктурируемостью и биосовместимостью.

Отдельное внимание в качестве компонента системы для доставки лекарства необходимо уделить *коллагену*. Коллаген представляет собой основной белок в соединительных тканях животных и человека, содержится в значительных количествах в коже, костях, зубах, сухожилиях и большинстве тканей организма и составляет примерно одну треть от общего содержания белков в организмах человека и млекопитающих. Он также играет важную роль в формировании тканей и органов и включен в функциональные блоки многих клеток. Коллаген используется в качестве биоматериала для восстановления и реконструкции тканей и в качестве перевязочного материала для ран [36].

Известны исследования, посвященные использованию коллагена в качестве «доставщика» лекарственных средств. Абсорбция коллагена *in vivo* контролируется с помощью связывающих агентов, таких как глутаральдегид, или путем стимуляции связывания воздействием ультрафиолетового или гамма-облучения для усиления

эффекта отложенного высвобождения. Скорость высвобождения лекарства может регулироваться различными способами:

- концентрацией коллагенового геля в процессе подготовки системы доставки лекарства;
- формой системы доставки лекарства;
- степенью связывания коллагена.

Биоматериалы на основе коллагена используются для доставки различных лекарственных препаратов, таких как антибиотики и антисептики (тетрациклин, доксициклин, ролитетрациклин, миноциклин, метронидазол, цефтазидин, цефотаксим, гентамицин, амикасин, тобрамицин, ванкомицин, хлоргексидин), статины (розувастатин), витамины (рибофлавин), парасимпатомиметические алкалоиды (пилокарпин) и др.

К наиболее известным системам доставки лекарств на основе коллагена относятся гидрогели и матрицы. На рис. 21 схематично представлена доставка лекарственного вещества с помощью губчатого коллагена (матрицы).

Высвобождение лекарства из коллагеновой матрицы контролируется одним или несколькими процессами, включающими:

- гидратацию полимера в жидкости;
- набухание с формированием геля;
- диффузию лекарства из геля;
- конечную эрозию полимерного геля.

Предполагается, что коллагеновая матрица состоит из гомогенной полимерной подложки, в которой лекарство (раствор или взвесь) представлено в двух формах: свободной и связанной с полимерными цепями. Свободная форма лекарства подвержена процессам диффузии за счет явления десорбции, приводящим к немедленному высвобождению лекарства на первой стадии благодаря свойствам матрицы, как частично открытой пористой системы. Оставшееся лекарство, частично иммобилизованное в фибриллярной структуре коллагена, постепенно высвобождается после диффузии биологической жидкости

в матрицу, сопровождающейся ее набуханием и разрушением. В дополнение, кинетику высвобождения лекарства можно изменять путем различных химических обработок, которые влияют на скорость деградации или модифицируют свойства коллагеновой губки (пористость, плотность) [10].

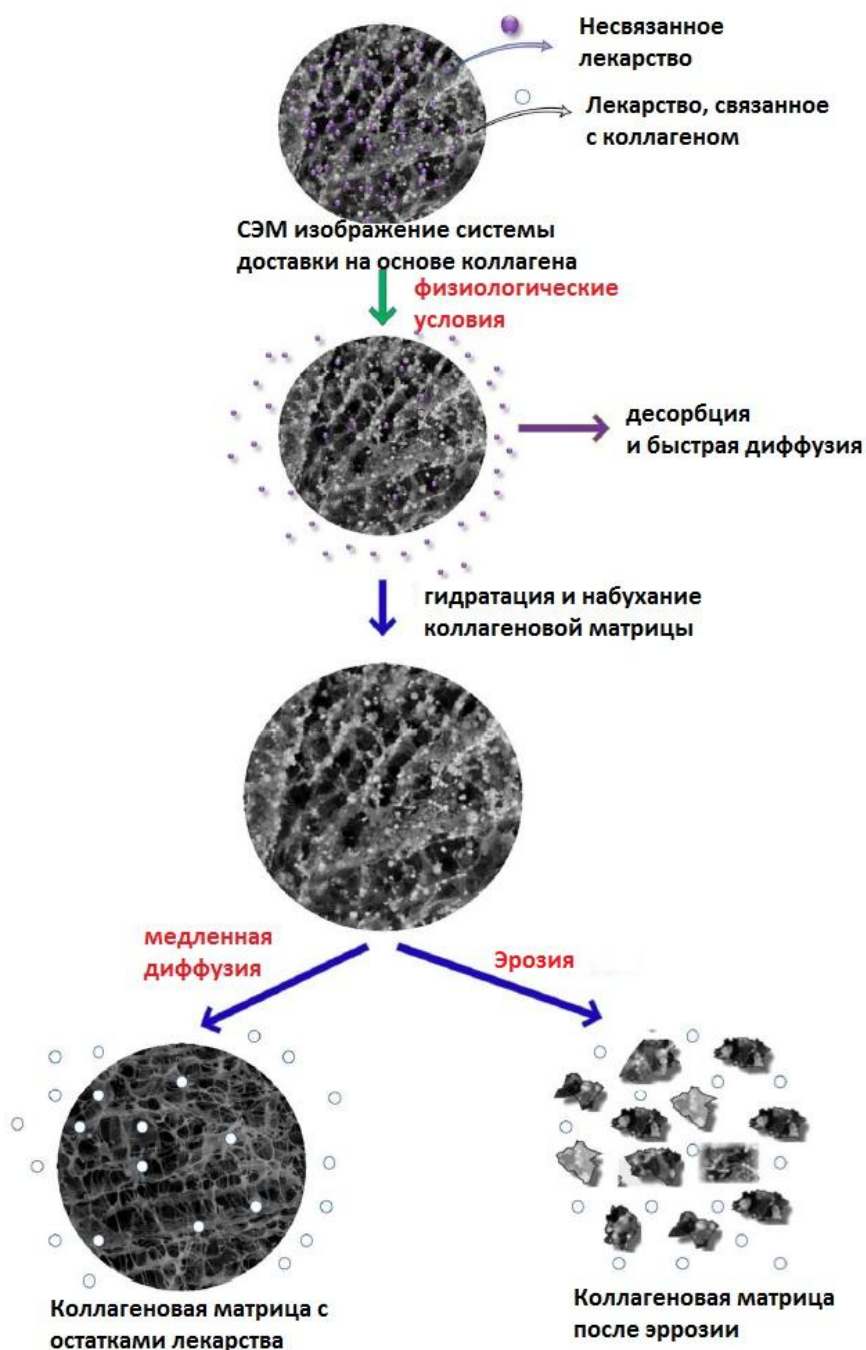


Рис. 21. Высвобождение ЛВ из коллагеновой матрицы [37]. СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

2.3. Использование микро- и наночастиц в системах доставки лекарства

Концепция применения микро- и наночастиц для доставки лекарства в заданную область организма основывается на опыте их использования в качестве радиодиагностических агентов в медико-биологических исследованиях ретикулоэндотелиальных систем (печень, селезенка, костный мозг и лимфатические узлы). Для направленной доставки лекарства применяют частицы размером от десятков нанометров до 300 мкм. В системах доставки лекарств на основе микро- и наночастиц лекарства могут быть химически связаны с транспортером, диспергированы в виде эмульсии в материале транспортера или инкапсулированы в него [10].

На высвобождение лекарств из частиц-транспортеров оказывают влияние следующие факторы:

- физико-химические свойства лекарства, положение в частице, а также характер его взаимодействия с ней;
- макроскопические параметры частиц;
- свойства окружающей среды: температура, наличие ферментов, ионная сила раствора, концентрация ионов водорода, внешние воздействия и др.

Системы доставки лекарств на основе микро- и наночастиц подразделяются на следующие классы:

- микросферы, представляющие собой частицы не настолько большие, чтобы выпадать в осадок в водном растворе (обычно 1–100 мкм);
- наночастицы, представляющие собой коллоидные частицы с размером от 10 до 1000 нм;
- стеклоподобные сахарные матрицы;
- липосомы;
- клеточные частицы, такие как эритроциты, лейкоциты и тромбоциты.

2.3.1. Применение микросфер для доставки лекарств

В качестве транспортеров лекарств часто применяют микросферы на основе связанных белков. Скорость высвобождения малых молекул лекарств из протеиновых микросфер достаточно велика, что затрудняет обеспечение пролонгированного действия лекарства. Однако эта проблема может быть решена, например, путем формирования комплексов лекарств с макромолекулами. Для производства микросфер используются полисахариды (например, крахмал) и широкий диапазон различных синтетических полимеров. Микрокапсулы отличаются от микросфер тем, что они имеют мембранный барьер, окружающий твердое или жидкое ядро, что является преимуществом в случае пептидов [10]. Известны следующие варианты применения микросфер и микрокапсул:

- доставка белков с помощью поли-DL-лактид-со-гликолид-агарозных микросфер, которые обеспечивают их стабилизацию;
- имитация естественных секреторных гранул для доставки лекарств с помощью мультикомпонентных, чувствительных к окружению, микросфер на основе гидрогелей, покрытых липидным бислоем;
- микроинкапсуляция терапевтических агентов для локально контролируемого высвобождения лекарства в центральной нервной системе через гематоэнцефалический барьер;
- химиоэмболизация опухолей, в которых блокирована сосудистая сеть;
- микрокапсулы, имеющие идеальный размер для ингаляции (1–5 мкм), могут применяться в препаратах для воздействия на легкие, как для локальной доставки, так и для системной абсорбции;
- в назальных системах доставки лекарства для системной абсорбции пептидов;

- поли-DL-лактид-гликолидные микросферы могут применяться в системах доставки антигенов с контролируемым высвобождением – парентеральных или оральных;
- доставка античувствительных олигонуклеотидов;
- наноинкапсуляция ДНК в биоадгезивных частицах в генной терапии при оральном введении.

Полимерные микросферы, состоящие из биodeградируемой полимерной матрицы, в которой распределен терапевтический агент, являются наиболее часто используемыми системами доставки лекарственных средств (СДЛС) в силу ряда преимуществ [36]:

- микросферы могут инкапсулировать многие типы лекарств, включая малые молекулы, белки и нуклеиновые кислоты;
- их легко вводить с помощью шприцевой иглы;
- обычно биосовместимы;
- обладают высокой биодоступностью;
- обеспечивают пролонгированное высвобождение ЛВ в течение длительного периода времени.

К недостаткам СДЛС на основе микросфер относятся сложность организации крупномасштабного производства, обеспечение стабильности лекарства при хранении, низкая степень контроля скорости высвобождения.

2.3.2. Методы производства полимерных микросфер

Для изготовления полимерных микросфер обычно применяются несколько процессов, включающих межфазную полимеризацию, экстракцию/выпаривание растворителя, экструзию* полимера,

*Экструзия – метод и процесс получения изделий из полимерных материалов (резиновых смесей, пластмасс, крахмалсодержащих и белоксодержащих смесей) путём продавливания расплава материала через формирующее отверстие (экструзионную головку) в экструдере.

распылительную сушку и коацервацию* или осаждение. Несмотря на то, что эти методы отличаются типами используемых материалов, а также видами лекарств, которые могут быть в них эффективно инкапсулированы, существует несколько общих требований, которые должны приниматься во внимание при оценке этих техник. Во-первых, процесс должен быть масштабируемым для массового производства микросфер со степенью стерильности, предъявляемой к фармацевтическим производствам. Во-вторых, чрезвычайно важным является точный и воспроизводимый контроль размера и единообразия формы микросфер, поскольку они влияют на скорость высвобождения лекарства, его локализацию *in vivo* и возможность введения с помощью шприцевой иглы. Наконец, процесс производства не должен влиять на сохранность инкапсулируемого лекарства, то есть следует избегать таких условий, как экстремальные температуры, наличие органических растворителей или физических воздействий, которые могут негативно повлиять на биоактивность лекарства.

Ниже рассматриваются три основных способа производства микросфер: полимеризация, экстракция/выпаривание эмульсии-растворителя и экструзия. Полимеризационные методы отличаются от остальных тем, что начальные материалы являются прекурсорами полимеров. Сложность контроля их размера ограничивает использование полимеризационных методов для инкапсулирования лекарств, однако, последние достижения в химии полимеризации делают этот подход более предпочтительным. В противоположность этому, в методах экстракции/выпаривания эмульсии-растворителя и экструзии используют готовые полимеры [36].

2.3.2.1. Методы межфазной полимеризации

В методах межфазной полимеризации обычно используется смесь мономера и инициатора, которая совместно полимеризуется

*Коацервация – расслоение коллоидной системы с образованием коллоидных скоплений.

с формированием микрочастиц. К трем общепринятым методам межфазной полимеризации относятся суспензионная, эмульсионная и дисперсионная полимеризация.

Суспензионная полимеризация. При суспензионной полимеризации готовится раствор инициатора и мономера в подходящем растворителе. Далее полученная смесь добавляется в среду, в которой мономер и инициатор не растворимы. В результате перемешивания в присутствии дисперсионных стабилизаторов, таких как низкомолекулярные полимеры или поверхностно-активные вещества (ПАВ), в среде формируются отдельные капли растворителя. Полимеризация происходит внутри этих капель, а полимер, также нерастворимый в суспензии, соответственно принимает форму и размер капель растворителя, в котором протекает реакция [36–40].

Эмульсионная полимеризация, часто применяемая для создания полимерных частиц на водной основе, аналогична суспензионной полимеризации за тем исключением, что инициатор является нерастворимым в органической среде и растворимым в водной среде (рис. 22). В качестве диспергирующих агентов обычно используют анионные стабилизаторы, которые могут формировать мицеллы с гидрофобным ядром, содержащим мономеры. При концентрации выше критической концентрации мицеллообразования в воде формируются свободные радикалы олигомеров, которые диффундируют в мицеллы, где вступают в реакцию с находящимся внутри мономером. Полимеры могут также образовывать агрегаты в водном растворе и уже на последних этапах роста полимерной цепочки включаться в мицеллы (рис. 22). Лекарства способны как инкапсулироваться в полученные микросферы, так и адсорбироваться на их поверхности [36].

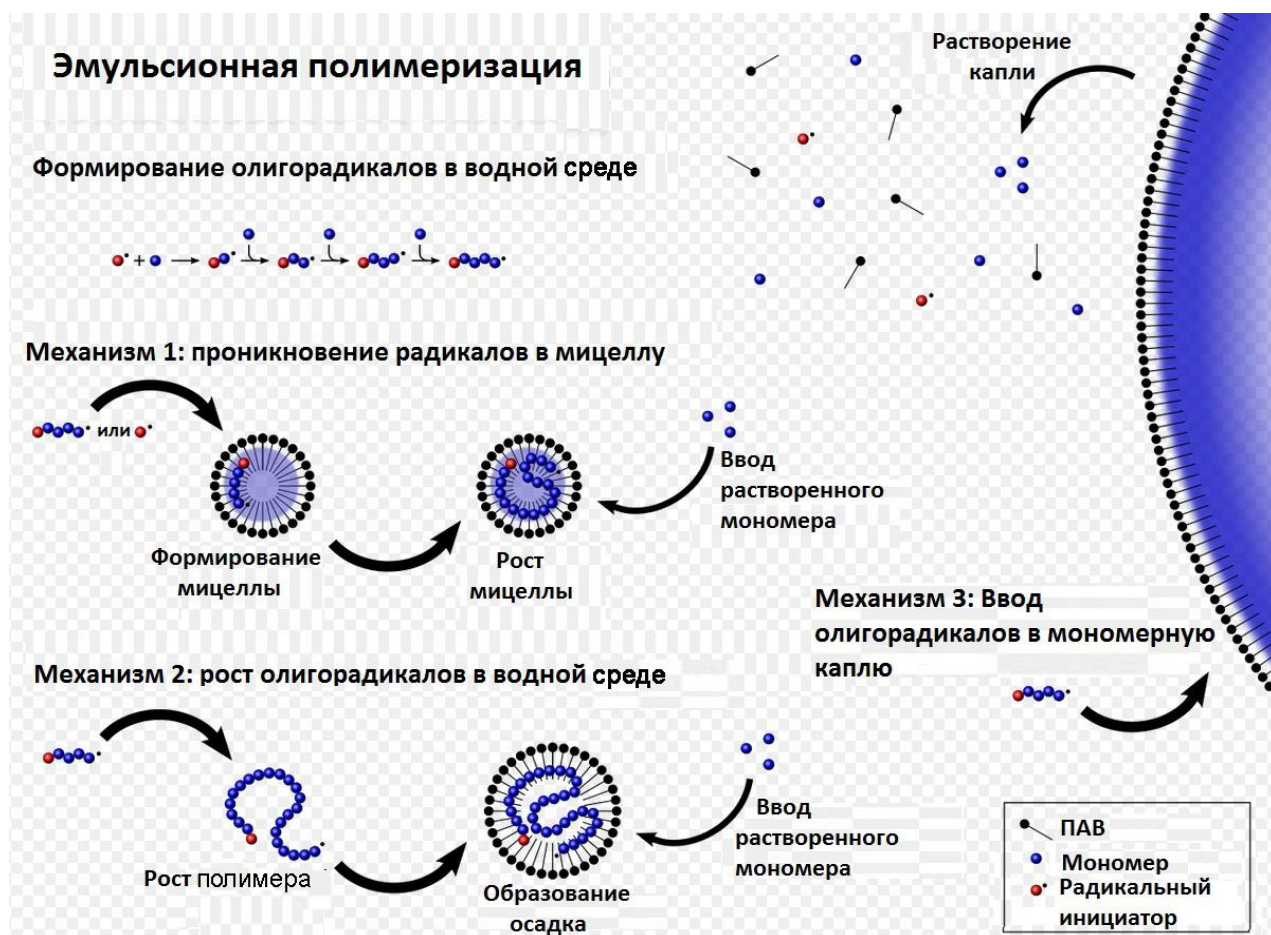


Рис. 22. Механизмы эмульсионной полимеризации [38]

Дисперсионная полимеризация проще предыдущих двух методов, поскольку реакция протекает в одной среде.

Механизм дисперсионной полимеризации включает в себя следующие этапы [41]:

- инициация роста полимерной цепочки;
- зарождение частиц размером 1–20 нм;
- формирование частиц размером до 200 нм;
- созревание микрочастиц.

Все эти этапы влияют на количество образующихся частиц, их размер и распределение по размерам.

Полимеризация начинается в гомогенной смеси мономеров, инициатора и полимерного стабилизатора в едином растворителе или смеси растворителей. При повышенной температуре вещество-инициатор

разлагается, в результате чего формируются свободные радикалы, которые инициируют рост полимерной цепочки путем добавления мономеров. Растущая цепь остается в растворе до тех пор, пока ее длина не достигнет критического размера, после чего рост прекращается. На этом этап, называемый «зарождением», завершен. Далее эти нестабильные наноразмерные частицы с размерами 1–20 нм агрегируют в частицы большего размера до 200 нм и стабилизируются от дальнейшей агрегации путем поглощения вещества-стабилизатора из раствора.

Принято считать, что число образующихся частиц определяется ранними стадиями процесса. После этапа формирования частиц их количество не меняется, однако размеры продолжают расти. Число завершенных цепочек в готовых частицах определяется агрегацией частиц-зародышей и кинетикой стабилизации образующихся агрегатов. Пока частицы имеют нано- и субнаноразмеры, агрегация преобладает над процессом адсорбции агента-стабилизатора. По мере увеличения размера частицы эти два процесса становятся равновероятными, а позднее начинает преобладать процесс стабилизации.

Существует качественное различие между формированием частиц при дисперсионной полимеризации и эмульсионной или суспензионной полимеризации. При эмульсионной полимеризации мономер стабилизируется в больших каплях и мицеллах с помощью ПАВ. Олигомерные радикалы, формирующиеся в водной среде, поглощаются мицеллами, и дальнейший рост частиц до микроразмеров продолжается в мицеллах. В случае суспензионной полимеризации, мономер в смеси с подходящим стабилизатором (суспензионным агентом) при перемешивании с помощью мешалки образует в растворе суспензию в виде небольших капель. Рост частиц происходит главным образом в каплях. Конечный размер частиц полимерных микросфер примерно совпадает с размером капель. Тем не менее, во всех трех процессах, как только частицы сформированы, дальнейшее увеличение их размеров происходит внутри присоединяющих мономеров полимерных частиц.

Очевидно, что стабилизация при дисперсионной полимеризации имеет очень большое значение. При отсутствии стерического вещества – стабилизатора, стабильные частицы не могут сформироваться, и агрегация не контролируется. Принято считать, что кинетика зарождения частиц определяет их количество, а стабилизация – распределение по размерам [41].

Метод фотополимеризации. Оуенс и соавт. предложен способ производства микросфер путем сжатого осаждения антирастворителя* и использования фотополимеризации [39]. В этом методе реакционные мономеры (полиэтиленгликоль (ПЭГ) диакрилат) и фотоинициаторы растворяются в разжижителе и распыляются в диоксиде углерода (антирастворитель), находящемся в сверхкритическом состоянии**, в котором происходит фотополимеризация – формирование связанных полимерных частиц под действием внешнего ультрафиолетового излучения (рис. 23). Полученные микросферы обладают бимодальным (двухкомпонентным) распределением по размерам – большая часть имеет размер в диапазоне 1–3 мкм и небольшое количество в диапазоне 20–200 мкм. Большие частицы гипотетически возникают вследствие случайной полимеризации в газовой фазе сверхкритического диоксида углерода. Этот метод является многообещающим, поскольку сверхкритический диоксид углерода более безопасен для лекарств по сравнению с другими полимеризационными средами. Установка для фотополимеризации приведена на рисунке 23.

* Антирастворитель – химическое вещество, снижающее избыточную растворяющую способность растворителя.

** Сверхкритическое состояние – состояние вещества, при котором исчезает различие между жидкой и газообразной фазой. Любое вещество, находящееся при температуре и давлении выше критической точки, является сверхкритической жидкостью. Свойства вещества в сверхкритическом состоянии промежуточные между его свойствами в газовой и жидкой фазе.

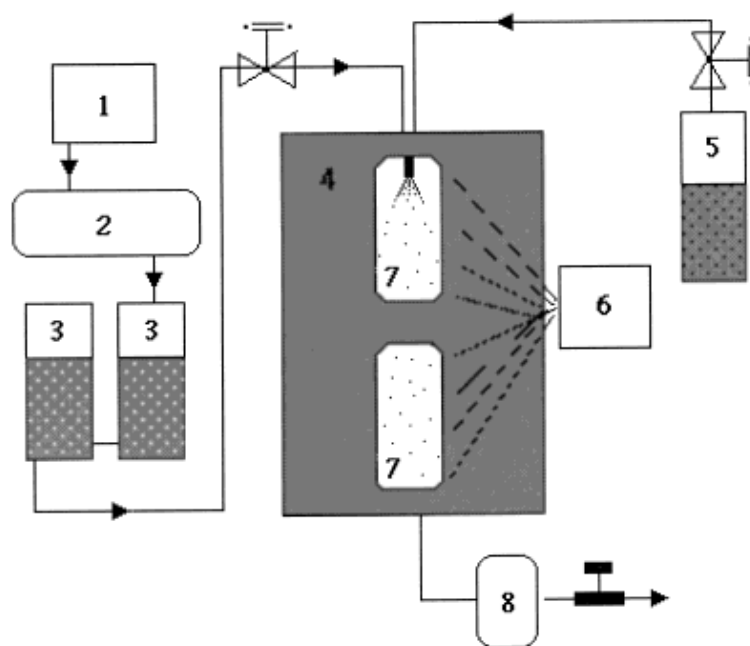


Рис. 23. Установка для фотополимеризации: 1 – подача антирастворителя; 2 – кислородный скруббер; 3 – насосы для доставки антирастворителя; 4 – камера; 5 – подача растворителя/мономера; 6 – источник УФ-излучения; 7 – боросиликатные окна; 8 – 0,2 мкм фильтр [39]

Установка работает следующим образом. Из антирастворителя (1), представляющего собой углекислый газ CO_2 , удаляется примесный кислород с помощью кислородного скруббера* (2), и антирастворитель направляется к двум газосжимающим насосам (3), подающим его в камеру (4) для создания повышенного давления в 8,5 Мпа при температуре 35 °С. В ту же камеру с помощью дополнительного насоса подается реакционный раствор (5). Молекулы вещества-инициатора, находящиеся в реакционном растворе, диссоциируют с образованием радикалов под воздействием иницирующего УФ излучения (6), которое проникает через боросиликатные окна (7). Эти радикалы формируют двойные связи с мультифункциональными мономерами, создавая полимерные цепочки. После понижения давления

*Скруббер – устройство, используемое для очистки газообразных сред от примесей, основанное на промывке газа жидкостью (обычно водой).

полученный продукт в виде частиц собирается из камеры (4), проходя через 0,2 мкм фильтр (8) на выходе.

2.3.2.2. Выпаривание растворителя из эмульсии

В методах экстракции микрочастиц путем выпаривания растворителя из эмульсии раствор, содержащий полимер (и, возможно, лекарство, которое должно быть в него инкапсулировано), вводится в несмешивающуюся с ним жидкость, содержащую небольшое количество стабилизатора. Эмульсия полимерного раствора в данной жидкости может быть изготовлена любым физическим методом, включающим гомогенизацию и ультразвуковое воздействие. Компоненты выбираются таким образом, чтобы растворитель слабо растворялся во второй среде. К примеру, для производства микросфер на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (ПМГК) или полиангидридов обычно используют такие растворители, как метиленхлорид или этилацетат в смеси с водой, содержащей поливиниловый спирт (ПВС) в качестве стабилизатора. После создания эмульсии раствор выпаривается, а диспергированная фаза насыщается полимером до тех пор, пока капли не «отвердеют», образуя частицы. Микросферы затем могут быть отфильтрованы, промыты и лиофилизированы*.

Растворимые в полимерном растворе лекарства могут быть включены в такую систему доставки простым сорастворением лекарства с полимером. Водорастворимые лекарства, нерастворимые в полимерной среде, могут быть включены в полимер, как минимум, тремя другими способами. В первом способе растворимость лекарства в полимерном растворе может быть повышена, например, путем введения ПАВ. При этом образуются молекулярные комплексы полимера с ионными ПАВ. Второй способ заключается в том, что лиофилизированные твердые частицы лекарства вводятся в полимерный

* Лиофилизация – способ удаления влаги из вещества, при котором высушиваемый препарат замораживается, а потом помещается в вакуумную камеру, где происходит сублимация растворителя.

раствор в виде суспензии. Наконец, микросферы могут быть изготовлены с использованием процесса двойного эмульгирования, при котором водный раствор, содержащий лекарство, сначала вводится в полимерный органический раствор, а затем эта эмульсия водных капель с лекарством в органическом полимерном растворе вводится в несмешиваемую с органическим раствором жидкость, как это показано на рис. 24. Полученные частицы состоят из очень малых водных капель (которые образуют поры после высушивания), включающих лекарство, окруженное полимерной матрицей.

Методы выпаривания растворителя из эмульсии имеют несколько недостатков, ограничивающих их применение. Они включают серию последовательных операций, масштабирование которых затруднительно, а крупномасштабное производство, как следствие, оказывается дорогостоящим. Другой критичной проблемой является то, что стандартные отклонения размеров частиц от среднего значения составляют до 50%. Поскольку размер микросфер напрямую влияет на скорость высвобождения лекарства из системы доставки, желательно, чтобы распределение по размерам было достаточно узким. В дополнение, использование органических растворителей может оказывать неблагоприятное воздействие на доставляемые лекарства – к примеру, вызывая денатурацию или агрегацию терапевтических белков, что приводит к уменьшению или даже исчезновению биоактивности. Органические растворители также достаточно сложно полностью удалить. Поскольку многие стандартно применяемые органические растворители (например, метиленхлорид) являются токсичными, концентрация остаточного растворителя в микросферах должна жестко контролироваться.

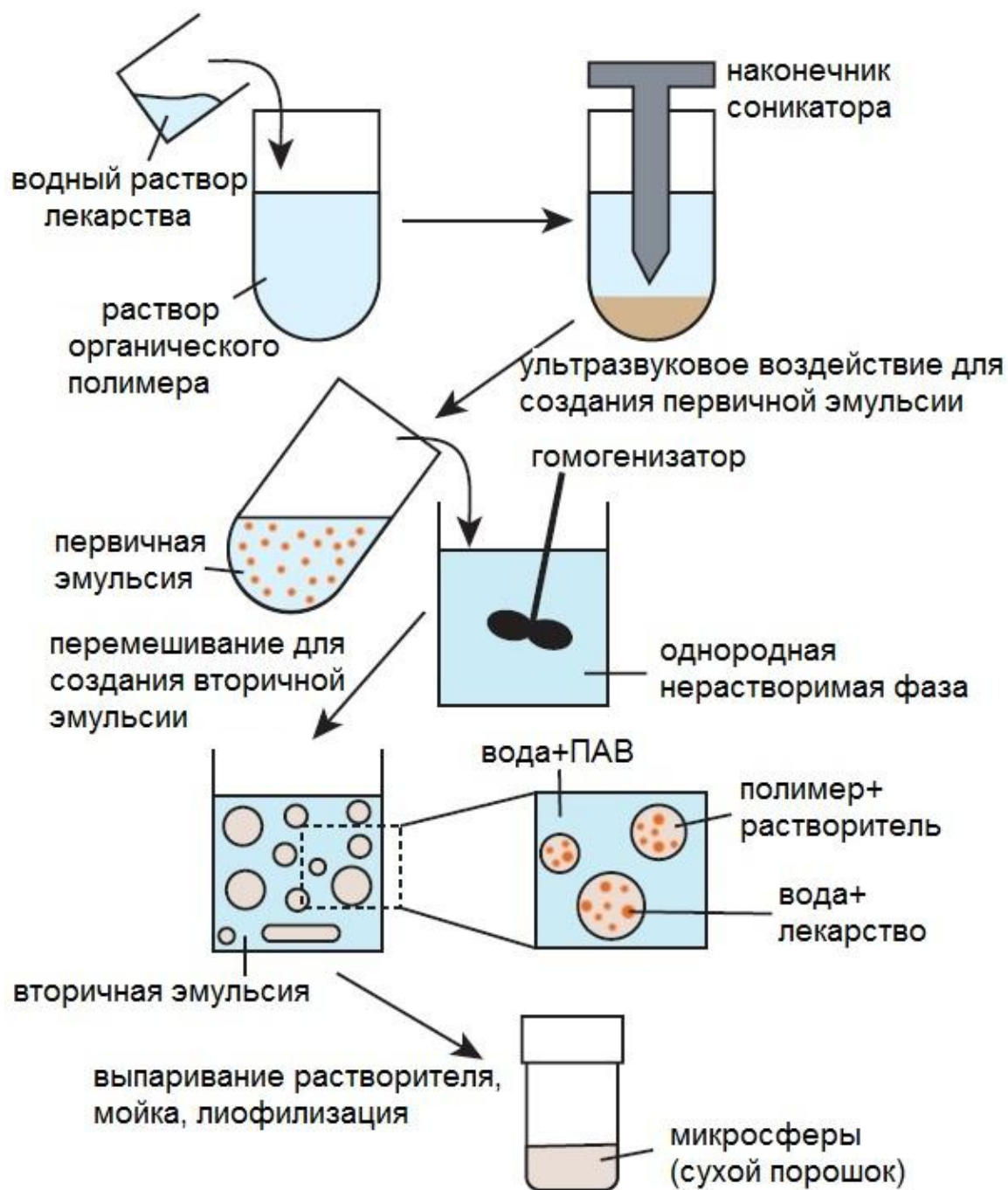


Рис. 24. Схематичное представление способа производства микросфер, включающих водорастворимые лекарства, методом двойного эмульгирования [36]

2.3.2.3. Экструзионные методы

В экструзионных методах микросферы формируются за счет пропускания веществ, содержащих микросферы, через отверстие. Важным преимуществом экструзионных методов является возможность получения достаточно узкого диапазона распределения микро-частиц по размерам. Однако поскольку поток, содержащий микросферы, часто принудительно пропускается через узкие отверстия на достаточно высоких скоростях, реактивные силы могут повредить инкапсулируемые терапевтические агенты.

К одному из перспективных экструзионных методов относится метод пористого стекла Ширазу [42] (рис. 25), основанный на прохождении полимерного раствора через пористую стеклянную мембрану с заданным размером пор. В данной установке для изготовления микросфер полимолочной кислоты (ПМК) применяется стеклянная порошковая мембрана со средним размером пор 5,2 мкм. Полимолочная кислота растворяется в смеси дихлорметана и ПАВ с образованием маслянистой жидкости. Второй жидкостью для формирования эмульсии является водный раствор поливинилового спирта и додецилсульфата натрия. Раствор полимолочной кислоты подается через поры стеклянной мембраны одного размера под давлением газообразного азота в водный раствор, в результате чего образуется эмульсия капель маслянистого раствора полимолочной кислоты в воде. Далее, непрерывно перемешивая раствор полимолочной кислоты в дихлорметане, выпаривают из него дихлорметан при комнатной температуре в течение 24 часов. После выпаривания дихлорметана полимерные микросферы, осажденные в метиловом спирте, отделяются центрифугированием и высушиваются в вакууме в течение 48 часов.

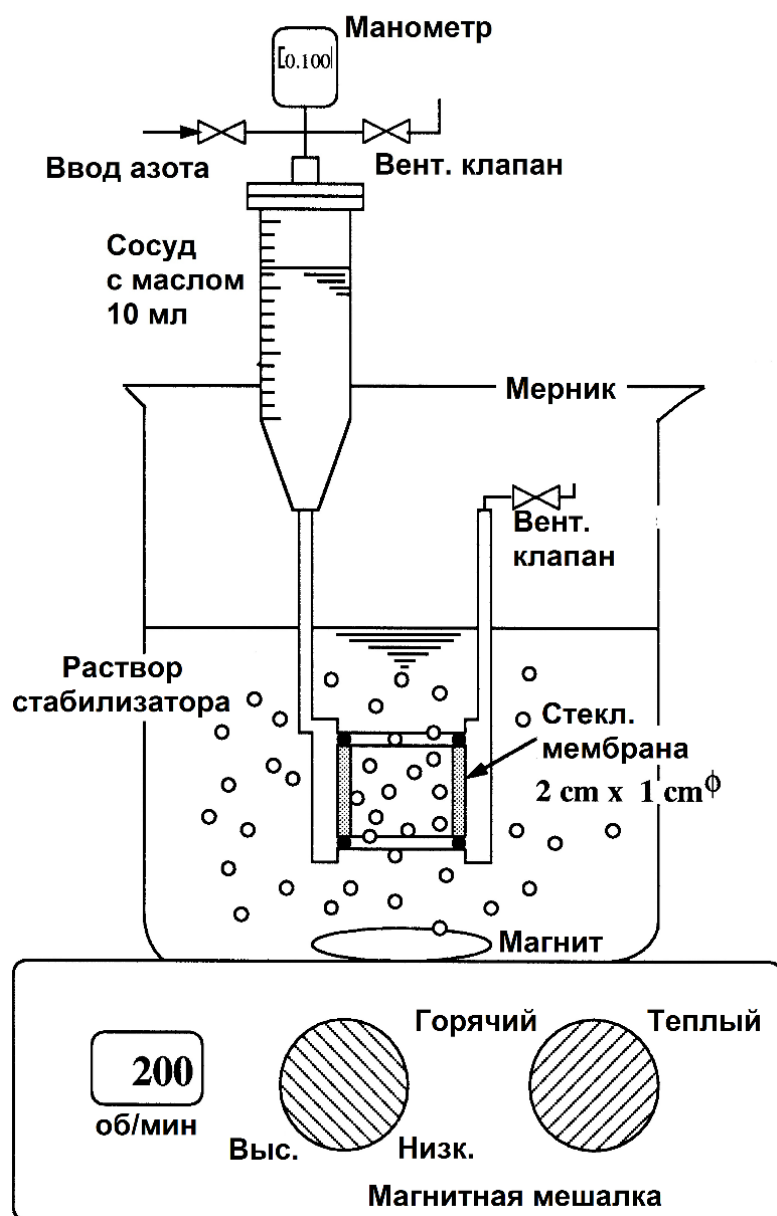


Рис. 25. Схематическое изображение установки для производства микрочастиц с использованием пористого стекла [42]

Группой Беркланда [39] был предложен альтернативный метод производства полимерных микросфер единого размера. Схема установки приведена на рисунке 26. Работа установки основана на протекании стационарного ламинарного потока полимерного раствора, содержащего материал для изготовления микросфер и лекарство, через малое сопло (от 20 мкм до нескольких мм в диаметре) с формировани-

ем гладкой, цилиндрической струи. Для контролируемого разбиения струи на капли, сопло вибрирует под действием пьезоэлектрического преобразователя, управляемого генератором переменного тока с частотой, настраиваемой так, чтобы соответствовать скорости потока и желаемому размеру капель (рис. 26 б).

Размер капель зависит от скорости протекания раствора и частоты вибрации сопла. Расстояние между соседними каплями λ соответственно равно:

$$\lambda = v/f, \quad (4.1)$$

где v – скорость потока, f – частота вибраций сопла (см. рис. 26).

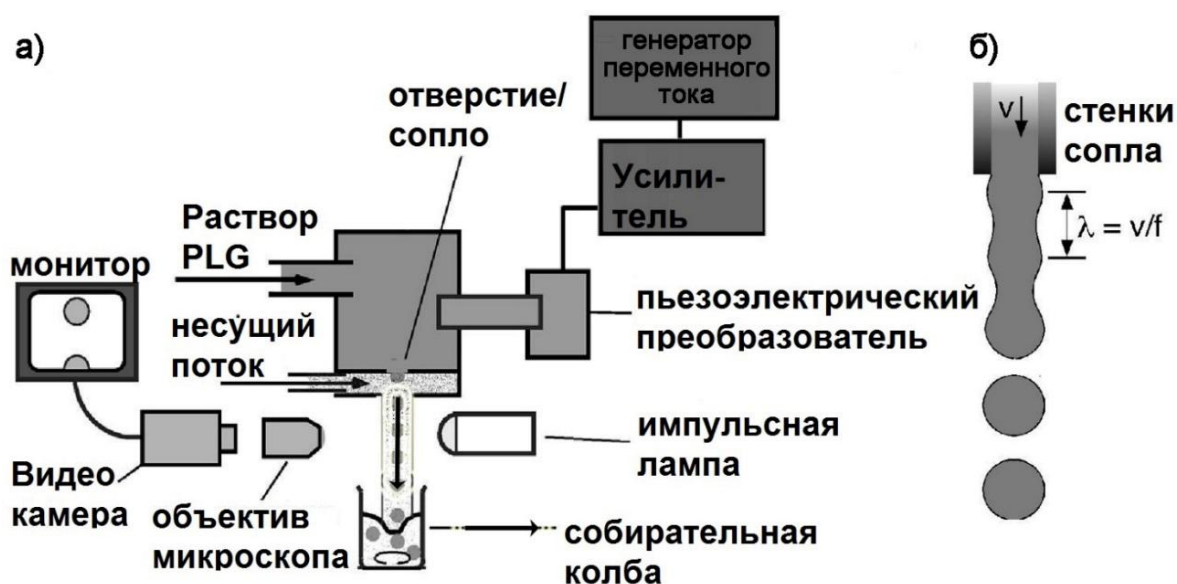


Рис. 26. Установка для производства микросфер: а) – схема; б) – взаимосвязь между расстоянием между каплями λ , скоростью потока v и частотой колебаний сопла f [43]

В работе применялась двойная коаксиальная система сопла таким образом, чтобы внутренний поток раствора полимера был окружен кольцевым водным, так называемым «несущим», потоком.

Окружающий полимерную струю водный поток позволяет уменьшить ее диаметр до размера меньшего, чем внутренний диаметр отверстия сопла. Таким способом можно получить микрокапли гораздо меньшего размера, чем диаметр сопла. Образующиеся полимерные капли подвергаются отверждению аналогично тому, как это осуществляется в традиционном методе выпаривания растворителя из эмульсии в водном растворе поливинилацетата.

2.3.3. Факторы, влияющие на доставку лекарств

Влияние механизма эрозии полимера. Поскольку желательно, а зачастую необходимо иметь возможность управлять скоростью ввода терапевтических агентов в орган-мишень, важно знать механизмы высвобождения лекарств из системы доставки и параметры, влияющие на скорость данного процесса. На скорость высвобождения лекарственного вещества может оказывать влияние целый ряд факторов: тип полимера, молекулярная масса, композиция сополимеров, природа наполнителей, добавляемых в микросферы (например, для стабилизации лекарств), размер микросфер и др.

В зависимости от скорости гидролиза их функциональных групп полимеры можно разделить на два больших класса:

- поверхностно-эродирующие;
- объемно-эродирующие.

Объемно-эродирующие полимеры, типичным примером которых является сополимер молочной и гликолевой кислот (ПМГК), свободно пропускают воду в полимерную матрицу. Как следствие, микросферы, производимые из объемно-эродирующих полимеров, разрушаются сразу по всему объему, в результате чего образуются мономеры и олигомеры, а лекарства диффундируют наружу из микросферы в окружающую среду (рис. 27 а). Микросферы из объемно-эродирующих полимеров обычно характеризуются двухступенчатым или трехступенчатым высвобождением. Первым этапом, часто, является

резкое быстрое выделение лекарства: за несколько первых часов после введения из системы доставки высвобождается до 50% общего содержания лекарства. Такой процесс, вероятно, является результатом выхода из микросфер лекарства, расположенного на/вблизи их поверхности, или в порах/пустотах, связанных с поверхностью. После этого мономеры, олигомеры и лекарство диффундируют из микросфер в окружающую среду, формируя сеть пор внутри полимерных микросфер. Далее эта сеть водонаполненных пор увеличивается в размере до тех пор, пока микросфера полностью не распадется на части. Если к этому моменту в микросфере остается лекарство, то наступает третий этап, когда все оставшееся количество лекарства высвобождается в процессе полного разрушения микросферы.

Поверхностно–эродирующие полимеры, такие как полиангидриды, состоят из относительно гидрофобных мономеров, связанных слабыми химическими связями. В этом случае они способны препятствовать внедрению воды в объем полимера, в то же время быстро деградируя до олигомеров и мономеров на границе раздела сред полимер – вода вследствие гидролиза* полимера на поверхности. Лекарство высвобождается на поверхности микросферы по мере разрушения полимера в приповерхностном слое и, как, правило, в меньшей степени, путем диффузии сквозь полимер к поверхности микрочастицы (рис. 27, б). Эрозия таких полимеров как, например, поликарбоксихеноксипропан-со-себациновая кислота, обычно протекает с постоянной скоростью. Если лекарство гомогенно диспергировано в объеме микросферы, наибольшая скорость высвобождения будет в начале процесса деградации. Со временем площадь поверхности сферы уменьшается и, как результат, скорость высвобождения асимптотически снижается.

* Гидролиз – химическая реакция взаимодействия вещества с водой, при которой происходит разложение этого вещества с образованием новых соединений.

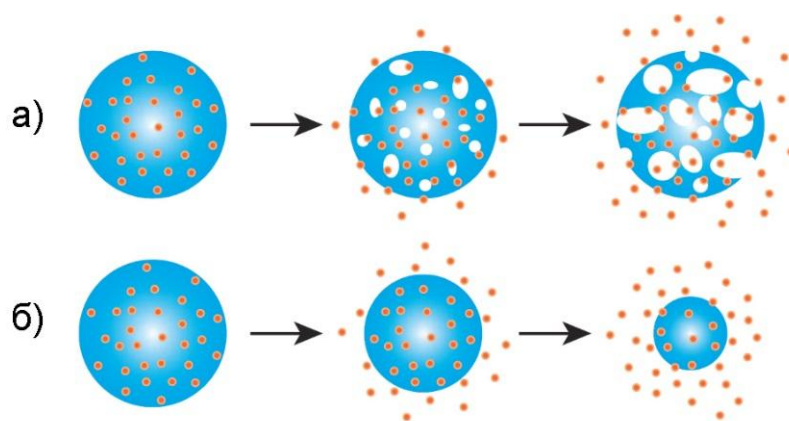


Рис. 27. Эрозия полимера и высвобождение лекарства из микросфер на основе: а) – объемно – эродирующих полимеров и б) – поверхностно – эродирующих полимеров [36]

Тем не менее, граница между объемной и поверхностной эрозией достаточно размыта. Различие между поверхностно- и объемно-эродирующими полимерами зависит от соотношения скоростей двух процессов: скорости диффузии молекул воды (или другой окружающей среды) внутрь полимерной микросферы и скорости деградации полимерной матрицы. Если скорость диффузии молекул воды внутрь микросферы существенно выше скорости деградации полимерного скелета, частица подвергается объемной эрозии, и деградация не ограничивается лишь поверхностью. В противоположном случае, эрозия, главным образом, протекает на поверхности микросферы, поскольку вода разрушает лишь химические связи в молекулах полимеров, находящихся в приповерхностном слое [36].

Роль молекулярной массы полимера. Большинство результатов исследований влияния молекулярной массы полимера на его деградацию указывает на то, что увеличение молекулярной массы приводит к уменьшению скорости высвобождения лекарства из полимерных микрочастиц, поскольку при этом уменьшается скорость диффузии молекул лекарства и продуктов деградации в окружающую среду. Кроме того, главным механизмом высвобождения многих лекарств является диффузия сквозь водонаполненные поры, формирующиеся

в процессе эрозии. Эти поры создаются по мере деградации полимера и образования мономеров и олигомеров, достаточно малых для того, чтобы растворяться в водном растворе и диффундировать из микро-частицы в окружающую среду. Такого рода малые продукты образуются быстрее при деградации полимеров с малой молекулярной массой. Другими словами, меньшее количество химических связей необходимо разрушить для того, чтобы образовались растворимые в воде олигомеры по мере уменьшения начальной молекулярной массы. Уменьшение скорости высвобождения лекарства с увеличением молекулярной массы полимеров наблюдается для малых молекул и пептидов.

Влияние композиции сополимера. Если микросферы изготовлены из сополимера, относительное количество мономерных звеньев каждого типа может влиять на скорость высвобождения. В общем случае, увеличение количества более быстро деградирующего мономера будет приводить к увеличению скорости высвобождения лекарства.

Влияние композиции сополимера может быть осложнено различиями в термодинамических параметрах мономерных звеньев каждого типа. К примеру, полимер молочной кислоты (ПМК) деградирует медленней полигликлевой кислоты (ПГК), однако, ПМК имеет существенно более высокую температуру стеклования по сравнению с ПГК и может образовывать кристаллическую фазу. Таким образом, с увеличением содержания L-лактида в сополимере ПМГК увеличивается вероятность образования фазо-разделенных доменов мономера молочной кислоты в микросферах, которые будут влиять на высвобождение лекарства [36].

Влияние взаимодействия полимера с лекарством. На скорость высвобождения лекарства из полимерных микро-частиц может также влиять взаимодействие между транспортируемым лекарством и полимером. Например, силы их взаимного притяжения, такие как электростатическое притяжение противоположных по знаку ионов или Ван-дер-Ваальсовы, могут замедлять скорость высвобождения ЛВ [36].

Влияние наполнителей. Для стабилизации самих микросфер или лекарств в них могут добавляться различные наполнители. Они также могут влиять на скорость высвобождения лекарства.

К примеру, для улучшения включения бычьего сывороточного альбумина (БСА) в микросферы поли(ϵ -капролактона) (PCL) и 65:35 PLGA Я. Янг и соавт. [44] добавили поливинилацетат (ПВА) в раствор БСА для стабилизации первичной эмульсии и унификации распределения частиц по размеру. Было показано, что увеличение концентрации ПВА уменьшает скорость высвобождения белка из микрочастиц за счет лучшего предотвращения слипания капель эмульсии в растворе.

В другой работе (Р. Джейн и соавт. [45]) было исследовано включение кислородсвязывающего белка скелетных мышц и сердца миоглобина в микросферы ПМГК в присутствии маннита – гидрофобного наполнителя, добавляемого для улучшения стабильности белка. Ими было установлено, что увеличение концентрации маннита приводит к увеличению скорости высвобождения и конечного количества высвобождаемого лекарства. Авторы предположили, что маннит увеличивает начальную пористость матрицы ПМГК, приводя к более быстрому формированию сети пор в микросфере в процессе эрозии полимера.

Влияние размера частиц. С уменьшением размера микросферы отношение ее площади к ее объему увеличивается. Таким образом, для заданной скорости диффузии молекул воды в микросферу, скорость потока лекарства из нее в окружающую среду будет увеличиваться с уменьшением размера частиц. Кроме того, проникновение молекул воды в микросферы меньшего размера может происходить быстрее вследствие меньших расстояний между ее поверхностью и центром. В дополнение, уменьшение площади поверхности с уменьшением размера частиц может приводить к уменьшению скорости эрозии слабо водорастворимых полимеров, таких как полиангидриды, а поскольку отношение площади поверхности к объему увеличивается, то скорость высвобождения будет выше для малых микросфер.

В то же время влияние размера микросфер на скорость высвобождения из них ЛВ может быть существенно более сложным. По мере деградации микросфер большие частицы аккумулируют больше кислотных продуктов деградации (например, молочной и гликолевой кислот из ПМГК), приводя к формированию более кислой среды. Уменьшение pH^* , в свою очередь, может приводить к более быстрой эрозии микрочастиц и увеличению скорости высвобождения ЛВ. Более того, большие микросферы обычно обладают более пористой внутренней структурой, предположительно вследствие более быстрой эрозии полимера.

В ряде исследований также показано, что размер частиц может влиять на распределение лекарств в микросферах. Вследствие ограниченной растворимости в полимерном растворе, некоторые лекарства могут перемещаться к внешней водной среде в процессе производства микросфер (вследствие диффузии из полимерных капель во внешнюю водную среду до завершения полного выпаривания растворителя). Это может приводить к неравномерному распределению лекарства с более высокой его концентрацией вблизи поверхности по сравнению с центром. Частицы меньшего размера «затвердевают» быстрее, поэтому распределение лекарства внутри оказывается более равномерным. Одновременное влияние увеличенной скорости деградации/эрозии и неравномерного распределения лекарства может уменьшить или даже привести к преобладанию обратной зависимости: увеличению скорости высвобождения лекарства с увеличением размера микросфер [36].

* pH – водородный показатель, мера активности (в очень разбавленных растворах она эквивалентна концентрации) ионов водорода в растворе, количественно выражающая его кислотность. Равен по модулю и противоположен по знаку десятичному логарифму активности водородных ионов, выраженной в молях на один литр.

ГЛАВА 3. Принципы адресной доставки лекарств

Биологическое действие лекарства на пациента зависит от его фармакологических свойств. Эти свойства обусловлены взаимодействием между лекарством и рецепторами в месте действия медикамента. Однако эффективность взаимодействия лекарства и мишени остается неопределенной до тех пор, пока лекарство не будет доставлено в место действия в той концентрации и с той скоростью, которая вызовет минимальные побочные и максимальный терапевтический эффекты. Адресная система доставки позволяет достичь обеих целей. Она представляет собой технологию лечения, которая подразумевает увеличение концентрации медикамента в одной или нескольких областях организма по сравнению с другими (рис. 28). Таким образом, лекарство доставляется только в определенную область. Это позволяет повысить эффективность лечения и уменьшить побочные эффекты [46].



Рис. 28. Преимущества адресной доставки лекарств [46]

Классические лекарственные формы введения, такие как парентеральные, пероральные лекарственные формы, включающие растворы и суспензии, таблетки, капсулы, спреи и мази обладают определенными присущими им недостатками. Парентеральная* доставка лекарств является сильно инвазивной и характеризуется недолговременным действием. Пероральное введение лекарств, несмотря на его высокую популярность, не может использоваться для определенных лекарственных препаратов, в частности на основе пептидов, вследствие их плохой абсорбции при таком способе введения и вероятного разрушения в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Действие лечебных кремов и мазей ограничивается, в основном, локальными эффектами и отсутствием системного действия. В настоящее время технологии доставки лекарств совершенствуются, при их разработке принимаются во внимание такие факторы, как биодоступность, процессы абсорбции лекарства, фармакокинетические процессы, временные интервалы для оптимальной доставки лекарства и др.

Эффективная система адресной доставки лекарства должна удовлетворять нескольким принципам [46]:

- обеспечить подходящую загрузку лекарства в соответствующее «устройство» для его доставки;
- обладать способностью «избегать» механизмов секреции**, которые могут ее разрушить, чтобы обеспечивалось длительное время ее циркуляции в организме, достаточное для доставки к желаемому месту действия;
- лекарство должно высвобождаться в специфической области организма в течение времени, необходимого для эффективного действия лекарства.

* Парентеральное введение – способ введения лекарственных средств в организм, при котором они минуя желудочно-кишечный тракт (инъекции, ингаляции и др.).

** Секреция – процесс выделения химических соединений из клетки.

3.1. Стратегии адресной доставки

«Нацеливание» лекарства в заданную область организма с одной стороны увеличивает его терапевтическую эффективность, а с другой – уменьшает его возможную токсичность. Для адресной доставки лекарства в желаемый орган/ткань используются две стратегии: пассивная и активная (рис. 29).

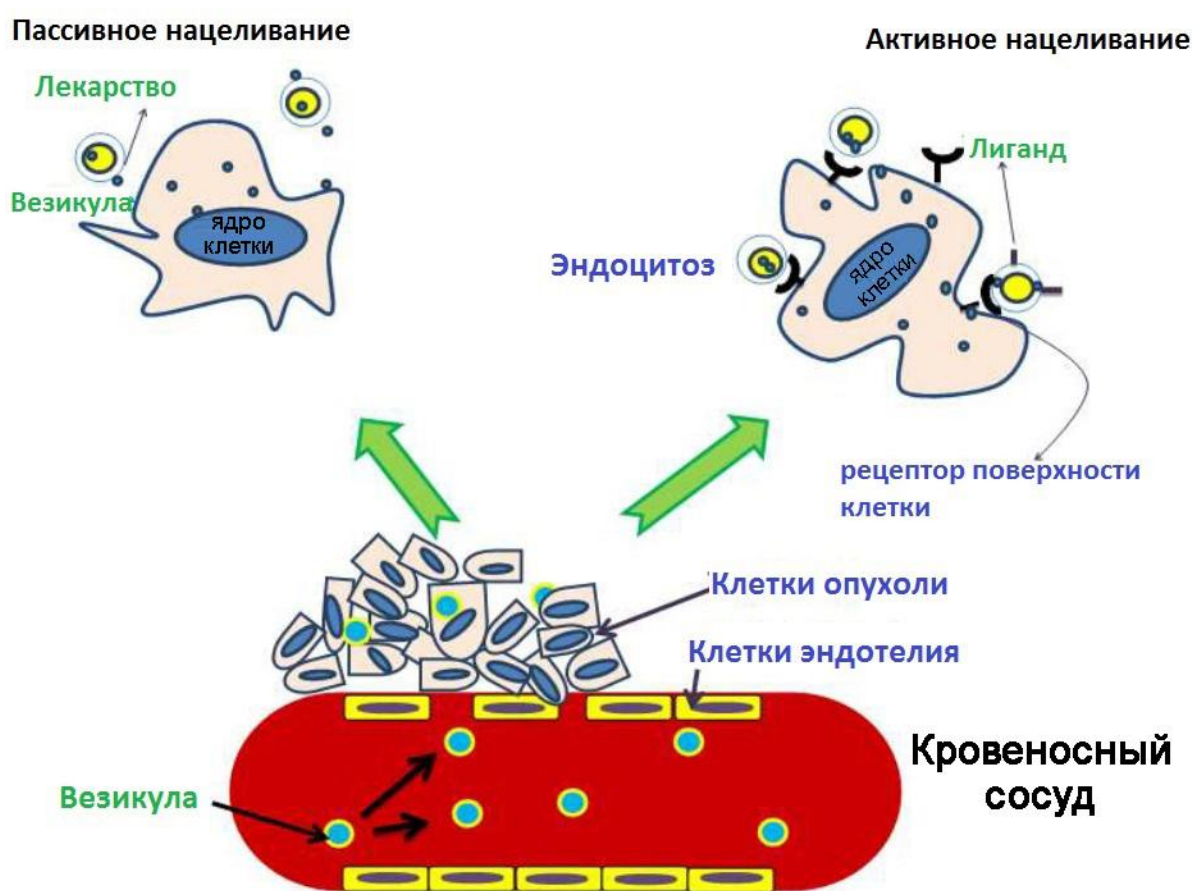


Рис. 29. Активное и пассивное нацеливание [46]

Пассивное нацеливание. Метод пассивного нацеливания подразумевает накопление лекарства в области вокруг интересующей мишени и, как правило, это касается опухолевых тканей. Он основан на так называемом эффекте улучшенной проходимости (проницаемости) и хранения (удержания) (EPR – Enhanced Permeability Retention) (рис. 30). Такой тип нацеливания присущ практически всем видам

транспортеров лекарств. Пассивное нацеливание – не совсем верное название, поскольку его нельзя отнести к форме селективного нацеливания.



Рис. 30. Схема EPR-эффекта [47]

Эффект улучшенной проходимости (схематически представлен на рис. 30) был обнаружен в 1986 году И. Матсумурой и Х. Маедой [47]. Их исследования показали, что большинство твердых опухолей имеют кровеносные сосуды с дефектной структурой, что приводит к повышенной проницаемости сосудов опухоли, и, как следствие, обеспечивает ткани опухоли достаточным количеством питательных веществ и кислорода для быстрого роста. На основе этого эффекта можно воспользоваться данной уникальной анатомо – физиологической природой кровеносных сосудов опухоли для транспорта макромолекул в опухолевые ткани. Макромолекулы массой более 40 кДа селективно проходят по опухолевым сосудам и аккумулируются в тканях опухоли. Таким образом, основанная на EPR-эффекте доставка лекарств не воздействует на нормальные ткани. Этот уникальный

феномен может служить основным способом адресной доставки антираковых лекарств, т.е. адресной химиотерапии рака.

Несмотря на распространенность систем доставки на основе EPR-эффекта, существует множество проблем, связанных с применением этой стратегии. Известно, что большие опухоли обладают физиологической гетерогенностью*, то есть, не во всех частях опухоли сосуды будут обладать одинаковой повышенной проницаемостью. Кроме того, было выявлено много дополнительных факторов, влияющих на проницаемость сосудов в опухолях. Например, некоторые части опухолей, в частности центральные части метастаз, не подвергаются EPR-эффекту и в них откладывается меньше лекарственных веществ, чем в остальных частях [48]. Кроме того, было показано, что различные виды опухолей имеют различные размеры пор в сосудистой сети и что максимальный размер пор зависит от типа пораженного органа. Также часто наблюдаются различия в структуре сосудов даже в опухолях одного типа [49].

Активное нацеливание. Активное нацеливание основано на использовании взаимодействий, направляющих лекарственное вещество по принципу «лиганд-рецептор». Нацеливание первого порядка представляет собой распределение лекарства по сети капилляров целевых областей – органов или тканей, например, лимфатической ткани, брюшной полости, плевральной полости, церебральных желудочков, глаз, суставов и др. Нацеливание второго порядка – это направление лекарств непосредственно к специфическим областям, таким как клетки опухолей, например, купферовские клетки в печени. Нацеливание третьего порядка представляет собой способ доставки, когда лекарство доставляется внутрь клеток-мишеней путем эндоцитоза или рецептор-опосредованного управляемого лигандами ввода [46].

* Физиологическая гетерогенность состоит в том, что клетки в популяции находятся в разном физиологическом состоянии, т. е. часть из них делится, другие растут, третьи стареют, а четвертые погибают.

3.2. Системы для адресной доставки лекарств

Любая система адресной доставки лекарств состоит из мишени и переносчиков лекарства или направляющих маркеров. Мишень представляет собой орган или ткань, которая нуждается в лечении. Переносчики представляют собой молекулы или любые другие системы, ответственные за успешную транспортировку лекарства в желаемую область. Лекарство может доставляться как непосредственно внутрь, так и в непосредственную близость от мишени. Идеальное устройство для доставки лекарства должно преодолевать даже сложные препятствия на пути к цели, такие, например, как гематоэнцефалический барьер. Оно должно легко распознаваться клетками мишени, а формируемый комплекс лекарство-лиганд должен быть стабильным. Кроме того, система должна быть нетоксичной и, желательно, биodeградируемой [46].

3.2.1. Нанотехнологические системы доставки

В последнее время возрос интерес к применению наноматериалов в системах доставки лекарств. Обусловлено это тем, что при использовании систем для доставки лекарств большого размера возникает ряд проблем, среди которых плохая растворимость, низкая биодоступность, терапевтическая неэффективность, побочные эффекты и сложность нацеливания на орган – мишень. Относительно недавно возникло понятие наномедицина – медицинские приложения нанотехнологий. Как следствие, развитие и производство наноструктур сделало возможным создание наноразмерных систем доставки лекарств. Предполагается, что такие наноструктуры обладают потенциальной возможностью предохранения лекарств от их разрушения различными ферментами ЖКТ. Поскольку наночастицы имеют очень малые размеры, их применение позволяет транспортировать лекарства

с низкой растворимостью в воде. Системы доставки лекарств на основе нанотехнологий могут обеспечить циркуляцию лекарства в кровотоке в течение длительного времени, приводя к меньшим колебаниям его концентрации в плазме и, соответственно, минимальным побочным эффектам. Эти частицы или структуры могут легко проникать в ткани и охотно поглощаются клетками, что делает их эффективными системами для адресной доставки лекарств. Согласно литературным данным поглощение наноразмерных частиц примерно в 15–250 раз выше по сравнению с микрочастицами [46]. Национальная инициатива по нанотехнологиям (NNI) определяет наночастицы как структуры со всеми тремя измерениями в наномасштабе (1–100 нм, 10^{-9} – 10^{-7} м). Наноразмерные частицы обладают специфическими свойствами, в частности могут модифицировать или имитировать определенные процессы, происходящие в живых организмах. Адресные системы доставки лекарств на основе наночастиц могут транспортировать лекарства через многие биологические барьеры, включая гематоэнцефалический барьер.

Липосомы. Липосомы были первыми наноразмерными системами для доставки лекарств. Они представляют собой везикулы, состоящие из водного ядра, окруженного гидрофобным липидным бислоем. Вещества, растворенные в ядре, в частности гидрофильные лекарства, не могут покинуть ядро липосомы, этому препятствует гидрофобный липидный бислой. В то же время, сам бислой позволяет абсорбироваться гидрофобным молекулам и, таким образом, липосомы могут использоваться в качестве амфифильных переносчиков (Рис. 31).

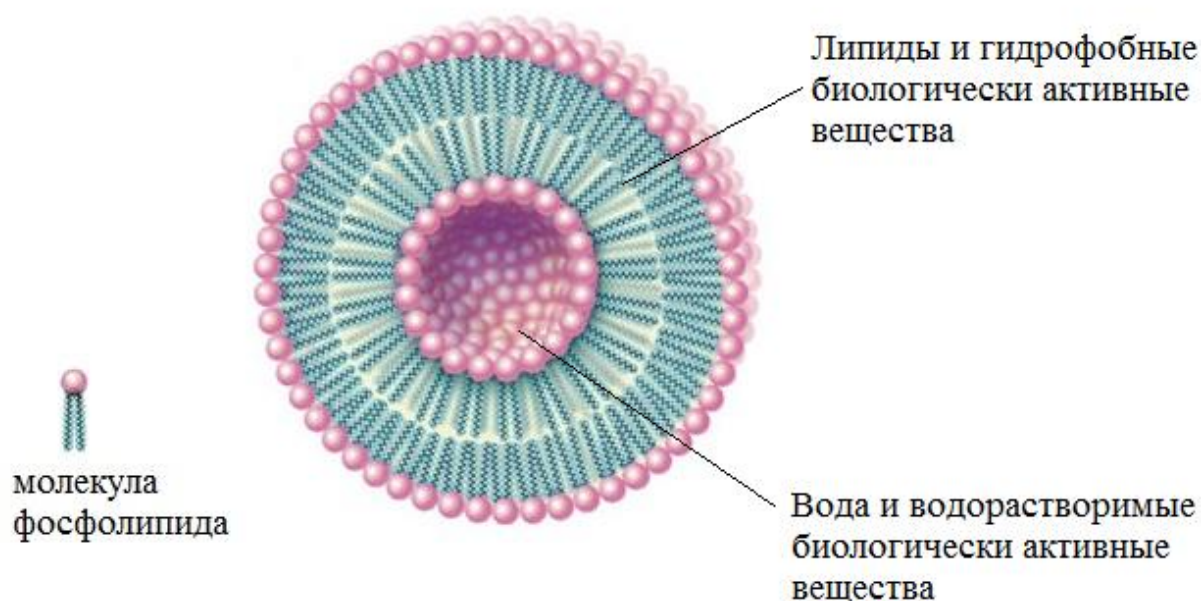


Рис. 31. Липосома [50]

Липосомы различаются по композиции, размеру, числу липидных бислоев и т.п. Они могут состоять из одного бислоя (однослойные или униламеллярные) или множества бислоев (мультиламеллярные). Однослойные липосомы, в свою очередь, подразделяются на малые униламеллярные липосомы и большие униламеллярные липосомы на основании их размера (рис. 32).

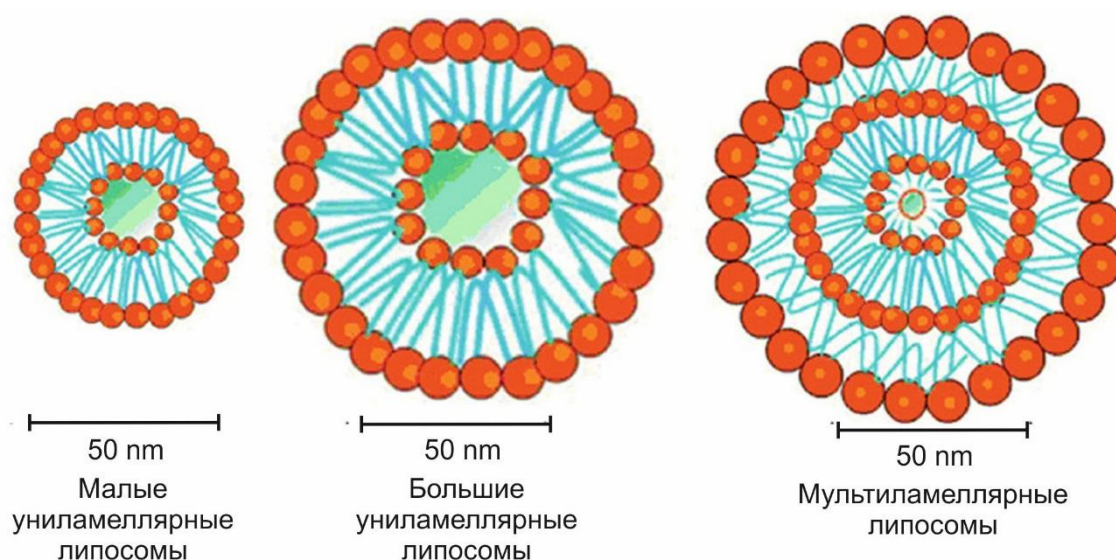


Рис. 32. Классификация липосом [50]

Полярная гидрофильная часть и гидрофобные хвостовые части фосфолипидов липосомы спонтанно формируют двухслойную мембрану, подобную клеточной, при этом углеводородные цепочки ориентируются навстречу друг другу, а головная полярная часть находится в непосредственном контакте с молекулами воды (Рис. 31).

Липосомы являются универсальными системами доставки лекарства в качестве резервуаров, обеспечивающих медленное и постоянное во времени высвобождение инкапсулированного препарата. Они обладают хорошей биологической совместимостью, не вызывают иммунных реакций, могут вводиться внутривенно, внутримышечно, подкожно, интратекально (путем прокола твердой оболочки спинного мозга), интратрахеально, перорально, интраназально (через нос) и т.д. Липосомные системы доставки могут содержать самые различные медицинские препараты, многие из которых уже прошли клинические испытания. Водорастворимые лекарства внедряют в ядро, а жирорастворимые – в липидную часть липосом. Включение лекарств в липосомы предотвращает их преждевременную деградацию в организме. Липосомы могут быть покрыты полиэтиленгликолем или другими полимерами, что приводит к увеличению их времени полувыведения.

Липид-полимерные гибридные наночастицы. Липид-полимерные гибридные наночастицы обладают преимуществами как липосом, так и полимерных наночастиц. Они состоят из полимерного ядра и липидного покрытия. Как показано на рис. 33, полимерное ядро, в которое включается вода или жирорастворимые лекарства, окружено липидным или липид-полиэтиленгликолевым монослоем, что позволяет функционализировать наночастицу путем присоединения направляющих веществ – лигандов к цепочкам полимера. Было установлено, что липид-полимерные гибридные наночастицы обладают высокой биосовместимостью, обусловленной липидной составляющей, и структурной целостностью, обеспечиваемой полимерной матрицей.

Размер таких частиц легко контролировать, они обладают высокой стабильностью, большой емкостью по отношению к включаемым лекарствам, контролируемой скоростью высвобождения лекарств и возможностью функционализации для направленной доставки и увеличения времени полувыведения.

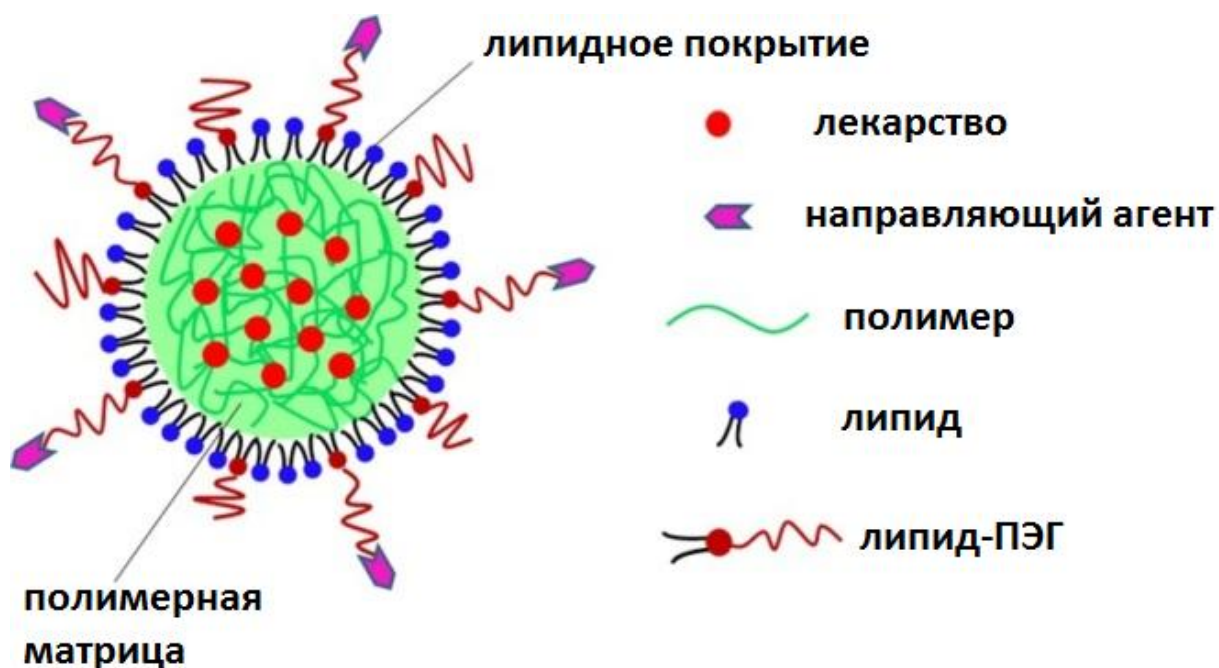


Рис. 33. Схематическое представление липид-полимерной наночастицы [51]

Дендримеры. Дендримеры [52, 53] представляют собой синтетические униламеллярные разветвленные наноструктуры (размером примерно 20 нм), содержащие ядро, несколько разветвленных слоев повторяющихся фрагментов и очень плотную функциональную концевую группу (лиганд, выполняющий функцию связывания с клеточным рецептором) (рис. 34).

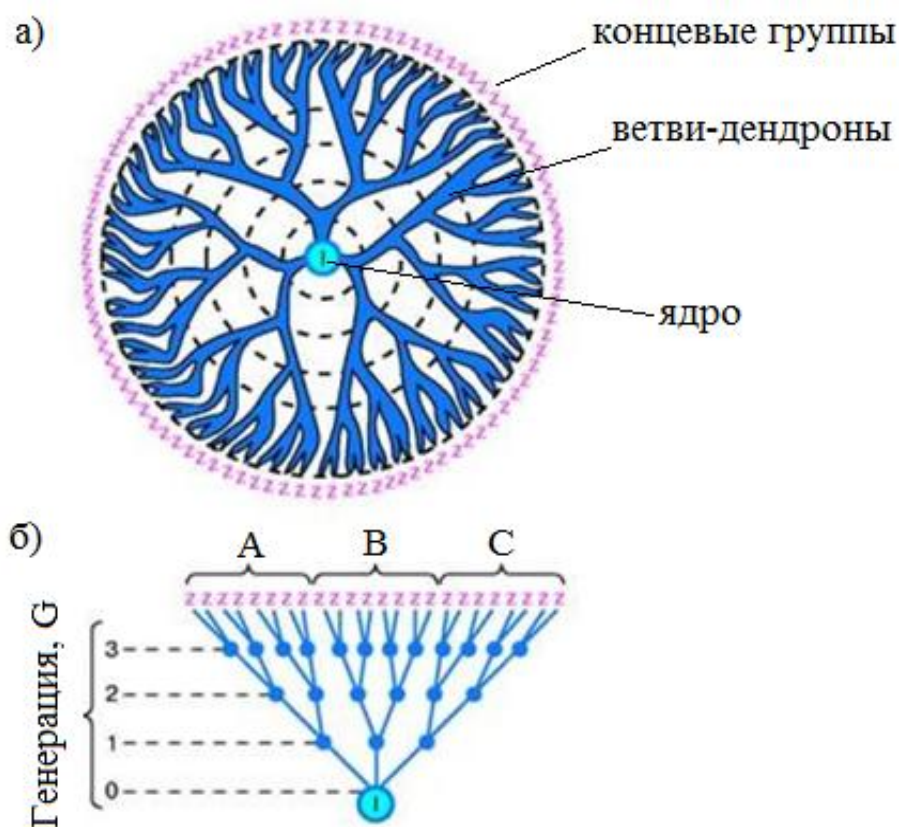


Рис. 34. Схема дендримера: а) – молекула; б) – химический граф дендримера: I – корень, G – генерации ветвлений; A, B, C – дендроны, Z – терминальные группы [52]

В пространственной архитектуре дендримеров выделяют три основных компонента: ядро (корень), боковые дендроны (или ветви) и концевые (терминальные) группы. Молекула дендримера состоит из 1–4 крон (дендронов), исходящих из одного корня (рис. 34). В зависимости от степени разветвленности дендритных заместителей выделяют дендримеры первого, второго и т.д. поколений, или генераций (G_1, G_2, \dots). Дендример первого поколения (первой генерации) имеет одну точку ветвления в каждой ветви, второго поколения – две точки ветвления и т.д. Номер генерации дендритных заместителей и их химическое строение определяют свойства макромолекул. «Рост» ветвей возможен во всех направлениях, и уже после 3–4 генераций молекула приобретает близкую к сфере форму (рис. 35) [54].

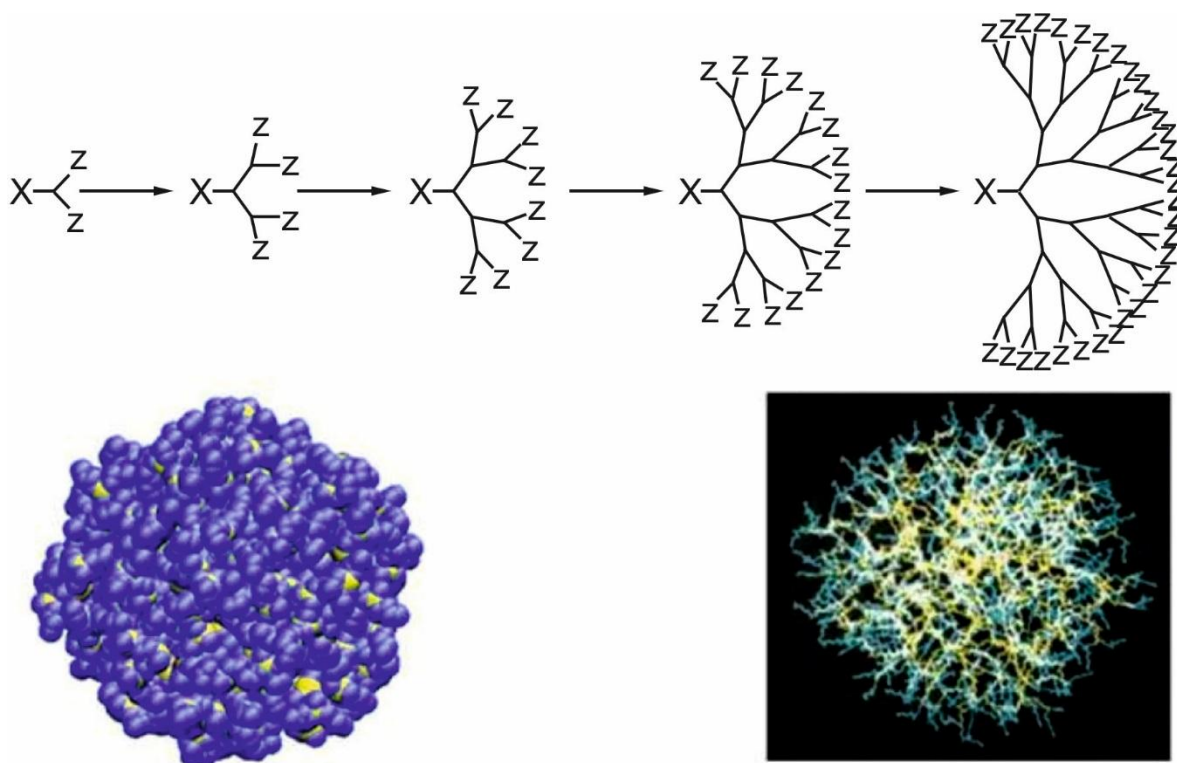


Рис. 35. Сборка дендримера из ветвистой молекулы Z-X-Z и примеры трехмерной структуры макромолекул дендримеров [54]

Так как все макромолекулы на каждой стадии контролируемого синтеза увеличивают молекулярную массу на одинаковую величину, то образующиеся полимеры являются монодисперсными, то есть содержат макромолекулы одинаковой массы и размера.

Концевая функциональная группа представляет собой лиганд, обеспечивающий его связывание с молекулами – рецепторами клеток. Она регулирует биосовместимость и физико-химические свойства дендримеров. Молекулярная структура дендримеров позволяет использовать их в качестве переносчиков различных лекарств. Лекарство можно как инкапсулировать в ядро при помощи водородных связей, гидрофобных взаимодействий или химического связывания, так и внедрять в пространство между ветвями или присоединять к поверхности дендримера путем ковалентного связывания с концевыми группами.

Как системы адресной доставки лекарств дендримеры обладают рядом преимуществ, обусловленных наличием:

- большого числа поверхностных функциональных групп;
- скрытого пространства, создаваемого ветвями;
- особого микроокружения для инкапсуляции внутрь дендримерного ядра.

В зависимости от пространственного строения макромолекулы выделяют сферические (разветвленные группы исходят из центрального ядра), цилиндрические и линейные дендримеры (ответвления исходят из точек, расположенных вдоль основной полимерной цепи) (рис. 36).

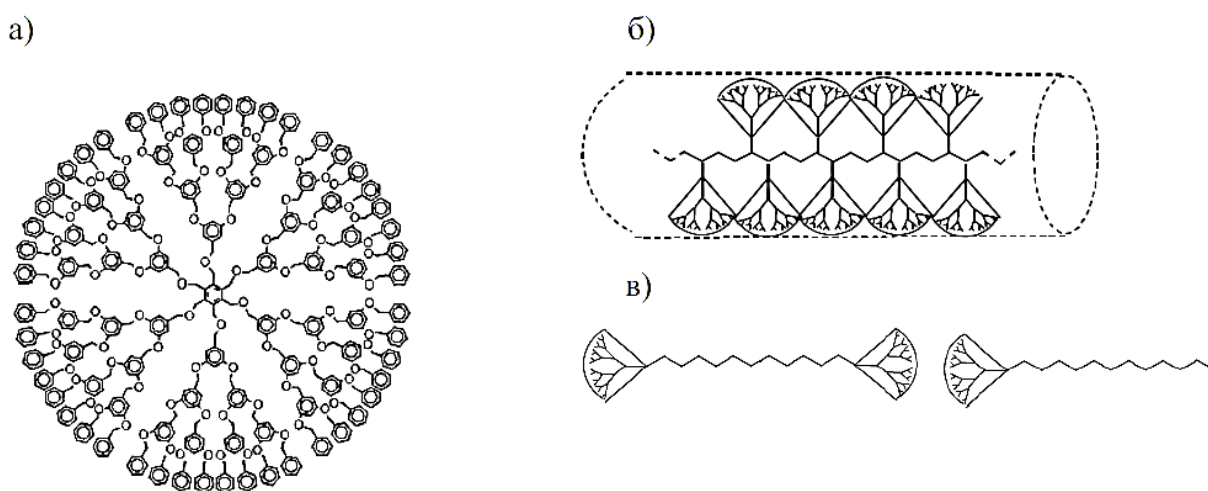


Рис. 36. Виды дендримеров: а) – сферический, б) – цилиндрический, в) – линейный [54]

Свойства дендримеров определяются максимально возможным диаметром нулевой генерации, числом генераций и строением скелета макромолекулы.

Поли(амидоаминные) дендримеры (ПАМАМ) (рис. 37) применяются для доставки лекарств с низкой молекулярной массой. Ряд лекарств, такие как противораковые препараты, к примеру, метотриксат, цисплатин, доксорубицин, 5-FU; противовоспалительные лекарства: ибупрофен, пироксикан, индометацин и др., были успешно включены в ПАМАМ дендримеры. Потенциал этих дендримеров можно увеличить путем присоединения направляющих лигандов к их

мультивалентной поверхности. Примером такой системы является дендример 5 (G5) ПАМАМ (рис. 38), конъюгированный с фолиевой кислотой и лекарством метотрексатом, использование которого существенно уменьшает размер опухоли [46, 55].

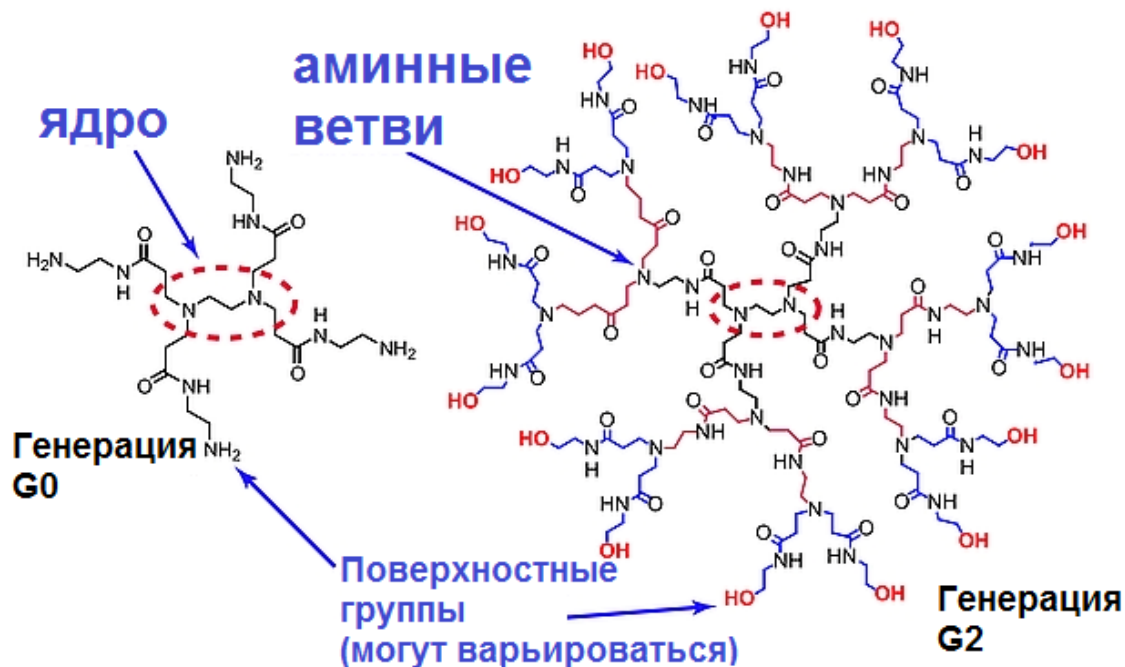


Рис. 37. Полиамидаминные ПАМАМ дендримеры [46, 53]

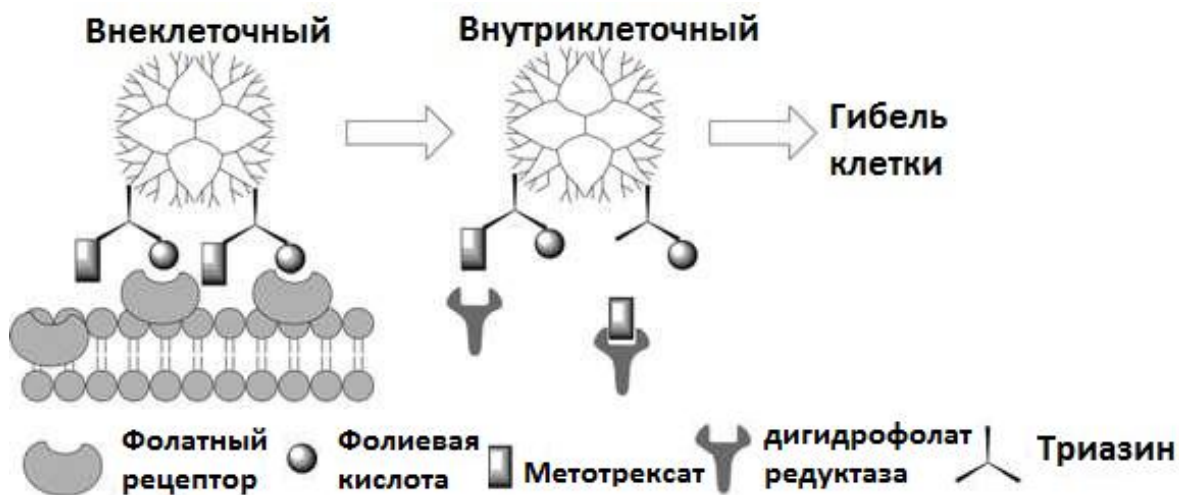
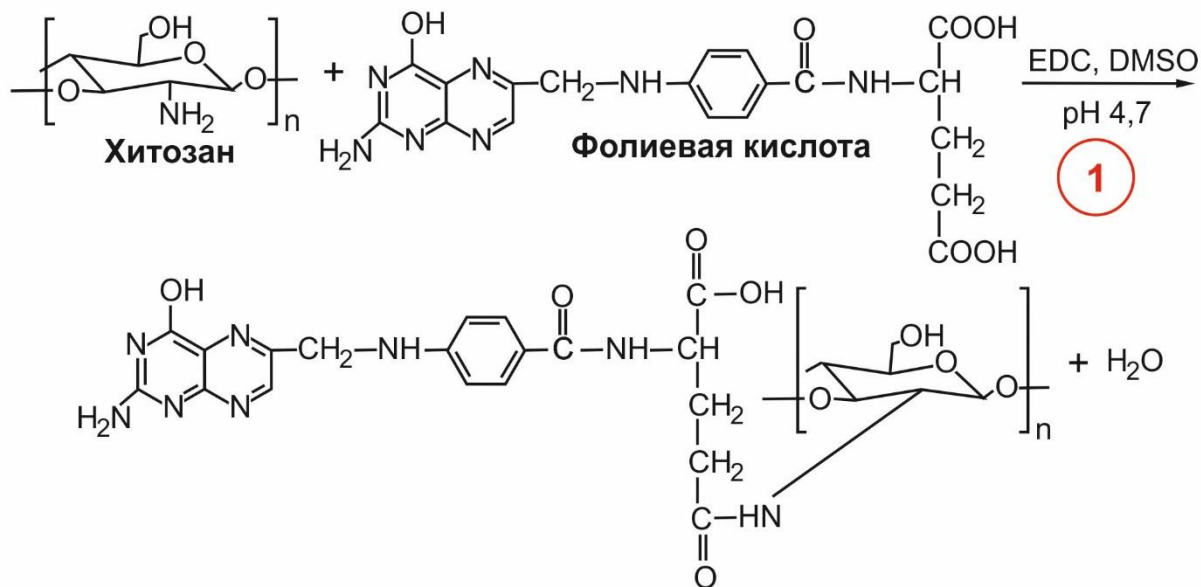


Рис. 38. Бифункциональный 5(G5) ПАМАМ дендример, конъюгированный с фолиевой кислотой и метотрексатом в качестве лекарства [46, 55]

Квантовые точки представляют собой нанокристаллические проводники или полупроводники, размеры которых составляют от 2 до 10 нм по всем трем измерениям [46, 56, 57]. Полупроводниковые нанокристаллы обладают способностью к люминесценции. При этом энергетический спектр таких квантовых точек зависит от их размера. В настоящее время они применяются в фотоэлементах, лазерных диодах, в качестве кубитов для квантовых вычислений, а также для визуализации в медицине. Причем, для введения в организм такие полупроводниковые нанокристаллы помещают в полимерную оболочку. В последние годы рассматривается возможность применения квантовых точек в системах доставки лекарств, которые позволят одновременно осуществлять адресацию лекарственных веществ к органу-мишени и визуализацию процесса доставки, что особенно полезно в случаях диагностики и лечения рака. Гидрофобные молекулы лекарств могут быть включены в пространство между ядром такой системы, представляющим собой квантовую точку, и слоем полимерного покрытия.

К примеру, квантовые точки на основе ZnO:Mn^{2+} , включающие в себя лекарства, покрытые полимерной оболочкой из связанного с фолатом хитозана, обладают способностью доставки лекарств, специфически нацеленных на опухоли, а также предоставляют возможность одновременного наблюдения за процессом доставки. Полимерная оболочка защищает квантовую точку и лекарство от преждевременного высвобождения в организме, а фолат выполняет функцию адресации лекарства к клеткам опухоли, поскольку обладает способностью связывания с соответствующими фолатными рецепторами клеток. Схема инкапсуляции квантовых точек ZnO:Mn^{2+} в фолат-конъюгированный хитозан и «загрузки» лекарства в таких системах доставки лекарства представлена на рисунке 39 [46, 56].

Этап 1: Подготовка фолат-конъюгированного хитозана



Этап 2: Инкапсуляция квантовых точек в фолат-конъюгированный хитозан



Этап 3: Загрузка лекарства



● Квантовые точки Zn:Mn²⁺
 ▬ Фолиевая кислота
 ■ Лекарство
 --- Электростатическое взаимодействие
 Фолат-конъюгированный хитозан

Рис. 39. Пошаговое представление инкапсуляции квантовых точек ZnO:Mn²⁺ в фолат-конъюгированный хитозан и «загрузки» лекарства [46, 56]

Размер квантовых точек обычно составляет 2–10 нм, а вместе с полимерной оболочкой достигает 5–20 нм в диаметре. Выбор такого размера систем доставки лекарства обусловлен тем обстоятельством,

что частицы диаметром менее 5 нм быстро выводятся из тела почками, имеющими большую проницаемость*. Частицы размером больше 20 нм с большей вероятностью будут разрушены защитной системой организма до достижения цели, поскольку будут восприниматься организмом как инородные включения. Кроме того, большие частицы плохо проникают в твердые ткани [46].

Пример мультифункциональной квантовой точки, покрытой амфифильным полимером, приведен на рисунке 40. Ядро квантовой точки может служить структурной основой и контрастным агентом для визуализации процесса доставки, а малые молекулы гидрофобных лекарств могут быть локализованы между неорганическим ядром и амфифильным полимерным покрытием. Гидрофильные терапевтические агенты и направляющие биомолекулы (такие как антитела**, пептиды и аптамеры***), в свою очередь, присоединяются к гидрофильной части амфифильного полимера с помощью ковалентных или ионных связей. Такая полностью интегрированная наноструктура представляет собой «магическую пулю», которая позволяет не только распознавать, связываться и лечить больные клетки, но и генерирует детектируемое излучение в оптическом диапазоне для наблюдения за траекторией движения частиц в реальном времени [48].

* Проницаемость – способность клеток и тканей пропускать газы, воду и растворенные в ней вещества. По Б.Н. Могильницкому «Проницаемость – это функциональнобиологическое состояние элементов активной соединительной ткани и межклеточного вещества, кровеносных и лимфатических сосудов элективно обуславливать поступление веществ в клетку из среды и из клетки в среду». По Д.Л. Рубинштейну, проницаемостью называется способность перегородки или мембраны пропускать некоторые растворенные вещества.

** Антитела – белковые соединения плазмы крови, образующиеся в ответ на введение в организм человека или теплокровных животных бактерий, вирусов, белковых токсинов и других антигенов. Связываясь активными участками (центрами) с бактериями или вирусами, антитела препятствуют их размножению или нейтрализуют выделяемые ими токсические вещества.

*** Аптамеры – олигонуклеотидные или пептидные молекулы, специфически связывающиеся с определёнными молекулами-мишенями.

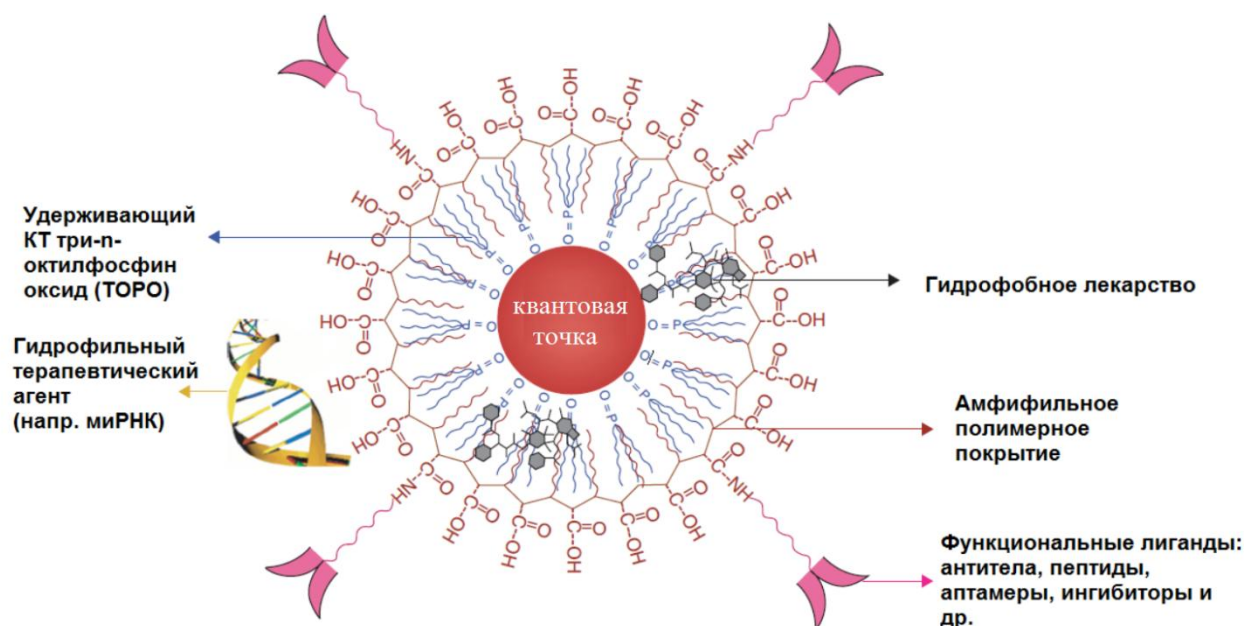


Рис. 40. Схематическое представление мультифункциональной квантовой точки, покрытой амфифильным полимером [58]

Гидрогели. Гидрогели представляют собой трехмерные полимерные матрицы, способные включать в себя большое количество молекул воды [46, 59]. Гидрогелевые наночастицы, известные как «наногели», быстро стали одним из предпочтительных методов, используемых в наноразмерных системах доставки лекарств. Возможность включения лекарств в гелевую матрицу обусловлена ее пористой структурой. Загрузка лекарства и стабильность его комплекса с матрицей сильно зависят от растворимости лекарства в воде. Гидрофильные лекарства могут доставляться в гидрогели путем их растворения в воде, которой заполнена полимерная матрица. Гидрофобные лекарства также могут быть включены в гидрогели с использованием определенных стратегий, таких как сополимеризация с гидрофильными мономерами или включение циклодекстринов (рис. 41).

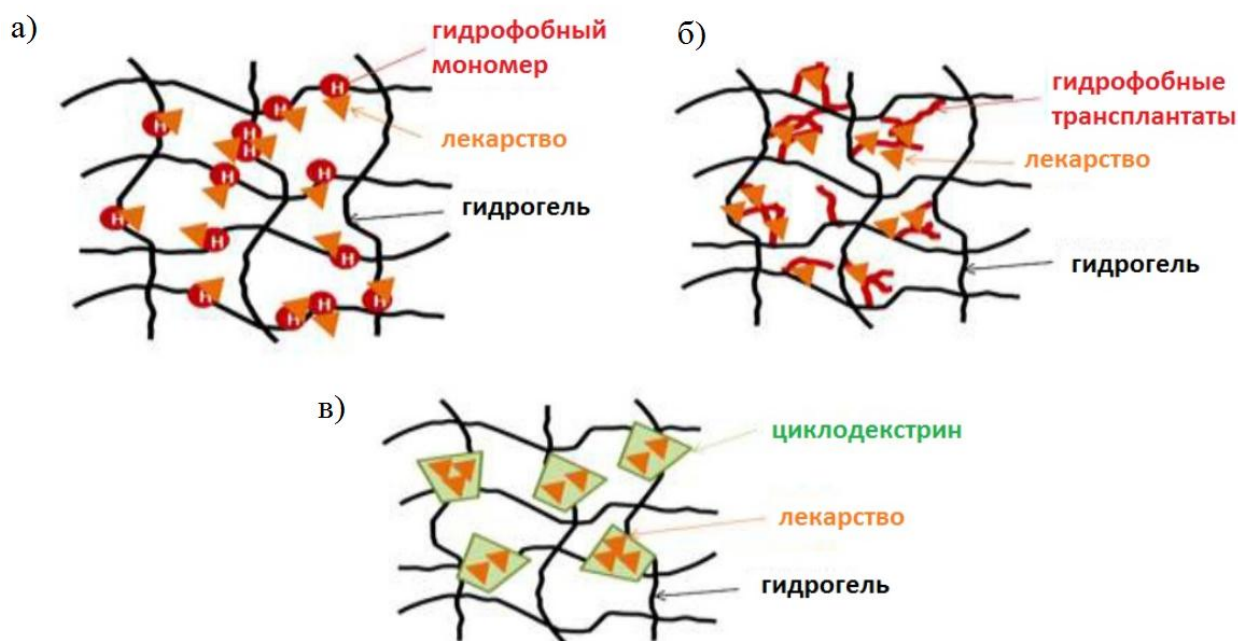


Рис. 41. Стратегии, используемые для доставки гидрофобных лекарств с помощью гидрогелей: а) – случайная сополимеризация с гидрофобным мономером, б) – присоединение гидрофобных боковых цепей, в) – включение циклодекстринов [59]

Недавно было показано, что наногели, загруженные доцетакселем и паклитакселем, нацеленные на клетки злокачественной опухоли молочной железы, значительно подавляют рост опухоли по сравнению с теми же препаратами, вводимыми без использования систем доставки на основе гидрогелей. Аналогичные результаты были получены в случае рака поджелудочной железы [54].

Наночастицы, заключенные в мембраны тромбоцитов. Имитирующие человеческие тромбоциты наночастицы обладают способностью адресной доставки лекарств, главным образом к таким областям, как поврежденные кровеносные сосуды и зараженные бактериями органы. Опыты на крысах и мышах показали, что эти наночастицы заметно улучшают терапевтический эффект лекарств. Такого рода наночастицы снаружи защищены мембранами человеческих тромбоцитов (рис. 42) [54, 60]. Это позволяет им беспрепятственно циркулировать

в кровотоке, поскольку иммунная система принимает их «за своих» и, соответственно, не атакует. Кроме того, покрытие мембранами тромбоцитов позволяет частицам связываться с поврежденными сосудами, обеспечивая подходящую адресацию лекарств.

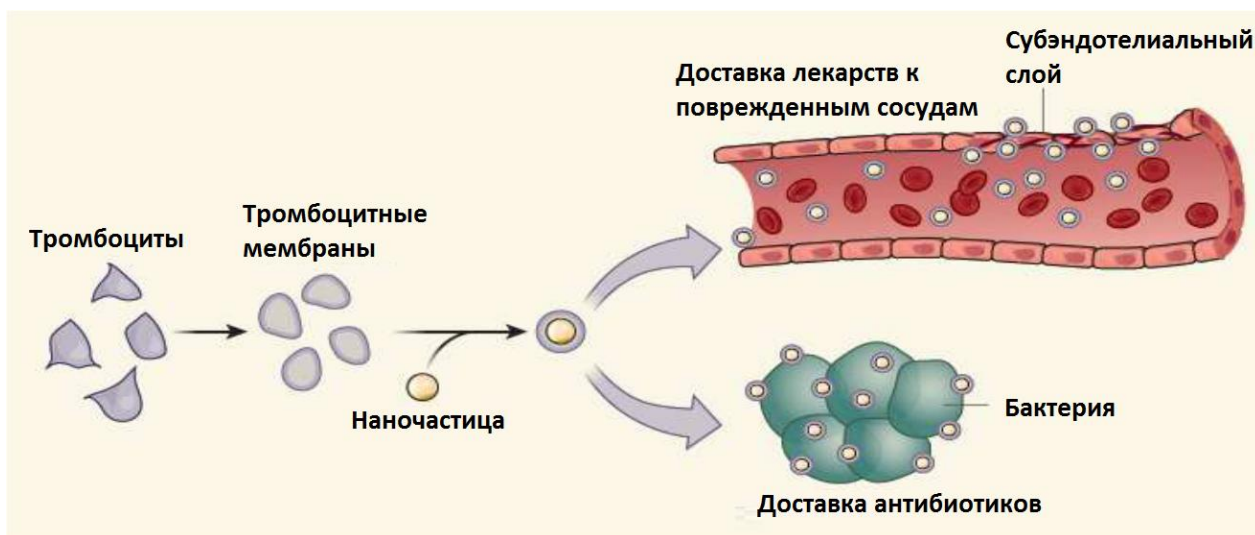


Рис. 42. Конструкция нанопереносчиков, заключенных в человеческие тромбоцитные мембраны [46, 60]

Данные наночастицы создаются путем выделения тромбоцитов из образцов крови с помощью центрифугирования с последующим отделением мембран от клеток. Далее изолированные мембраны разбиваются на множество небольших фрагментов, которые присоединяются к поверхности наноразмерного ядра, выполненного из биodeградирующего полимера. Полученный продукт представляет собой наночастицу, окруженную мембранами тромбоцитов, и имеет размер порядка 100 нм. Ядро наночастицы загружается несколькими молекулами лекарств, которые высвобождаются из нее посредством диффузии через полимерную матрицу и мембрану.

Поскольку мембраны получены из человеческих кровяных клеток, то такие наночастицы содержат поверхностные рецепторы, белки и антигены, которые обычно представлены в мембранах человеческих тромбоцитов. Были проведены эксперименты по использованию

этих наночастиц, загруженных доцетакселем, блокирующим образование рубцовой ткани в поврежденных кровеносных сосудах [46]. Было показано, что это способствует восстановлению сосудов вследствие откладывания частиц в поврежденных областях. Удовлетворительные результаты были также получены в случаях лечения бактериальных инфекций загруженными наноразмерными антибиотиками на основе мембран тромбоцитов.

Ниосомы. Ниосомы – самоассоциированные микроскопические везикулы, состоящие из неионных ПАВ и холестерина (рис. 43) [46]. Неионные ПАВ относятся к классу алкильных или диалкильных полиглицероловых эфиров и самоупорядочиваются с формированием бислоев. Таким образом, они имеют структуру, аналогичную структуре липосом, которой обладают фосфолипидные бислои. Ниосомы могут применяться в качестве замены исключительно дорогостоящих липосом, требующих соблюдения особых условий хранения и использования (поддержание стабильного уровня pH, низкой температуры, защита от светового воздействия) вследствие наличия в их структуре нестабильных фосфолипидов.

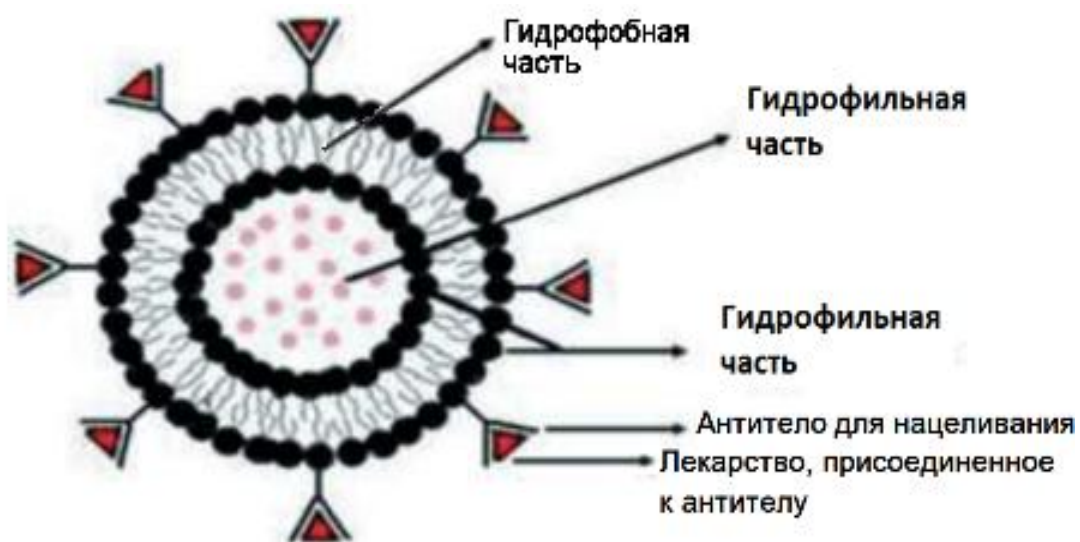


Рис. 43. Структура ниосомы [46]

Ниосомы классифицируются на основании числа бислоев, размера и метода изготовления. К трем главным типам, по аналогии с липосомами, относятся:

- мультиламеллярные везикулы (размер $> 0,06$ мкм);
- большие униламеллярные везикулы (размер $> 0,15$ мкм);
- малые униламеллярные везикулы (размер $0,025–0,05$ мкм).

Ниосомы активно поглощаются клетками ретикулоэндотелиальных систем, вследствие чего они эффективны в лечении рака печени и селезенки. Применение ниосом в качестве систем доставки увеличивает время полувыведения лекарства, что приводит к пролонгированию его присутствия в кровотоке и уменьшению вызываемых побочных эффектов. Кроме того, ниосомы могут обеспечивать отложенное высвобождение лекарств и доставку к желаемой локализации с помощью направляющих антител, присоединяемых к их поверхности (рис. 43).

3.2.2. Интеллектуальные капсулы

В последние несколько лет получили развитие интеллектуальные капсулы для проведения эндоскопии и биопсии. Интеллектуальная капсула представляет собой автономное устройство, оснащённое соответствующим сенсором (например, рН, датчик температуры, сопротивление), который может определять, каким путем, в какую область и к какому времени доставлять препарат. Более того, возможно осуществить визуализацию процесса доставки посредством различных типов излучения [46, 61]. Подробно они будут рассмотрены в главе 5.

Эти устройства не могут широко применяться для терапевтических целей вследствие необходимости отслеживания локализации капсул в реальном времени. Большой проблемой является также источник питания. Многие подобные устройства используют встроенные

батареи, что приводит к уменьшению свободного объема устройства для размещения лекарства и, соответственно, заключаемой в него терапевтической дозы. В дополнение, возникает опасность попадания в батареи электропроводящих человеческих жидкостей и возникновению в них короткого замыкания.

В связи с вышеизложенными трудностями, необходимо разрабатывать альтернативные способы обеспечения электропитания таких систем, например, используя внешние источники питания. Пример подобного устройства приведен на рисунке 44, а его принцип работы представлен схематически на рисунке 45. Оно включает в себя предварительно заряженный конденсатор, магнитный геркон^{*}, пружинную крышку, нихромовый провод и нейлоновый легкоплавкий предохранитель (нейлоновая нить) (рис. 45, а). Герконовый контакт замыкается в тот момент, когда капсула оказывается в непосредственной близости от постоянного магнита, который имплантируется в больной орган или подносится извне (рис. 45, б). Это приводит к разрядке конденсатора через нихромовый провод и плавлению нейлоновой нити, что в свою очередь приводит к разжиманию пружины, открыванию «крышки» и высвобождению лекарства (рис. 45). Отпадает необходимость в отслеживании положения капсулы в реальном времени. Данная система может применяться для лечения многих заболеваний желудочно-кишечного тракта [46, 61].

^{*}Геркон – электромеханическое коммутационное устройство (ключ), замыкающий контакты при воздействии внешнего магнитного поля.

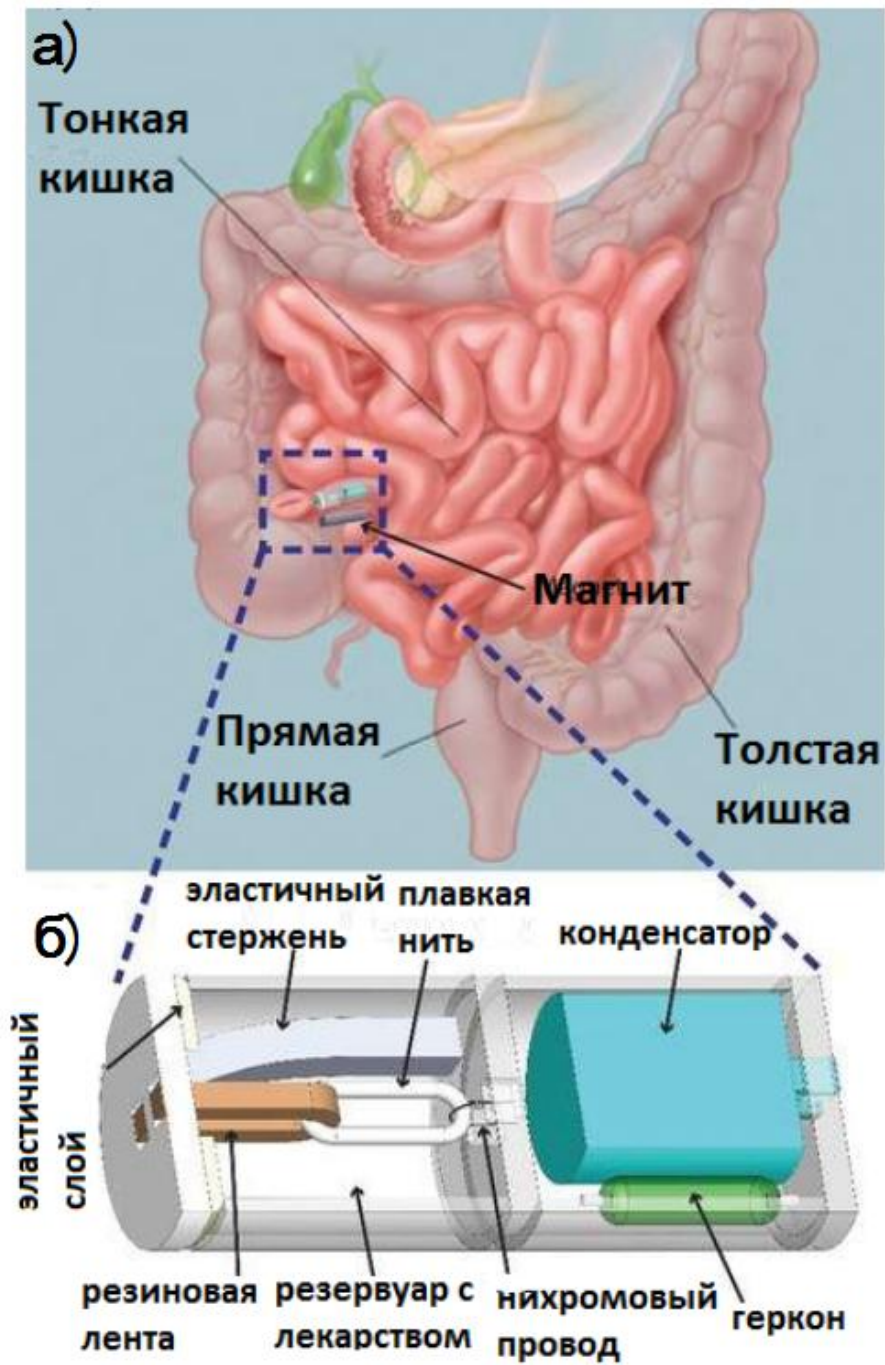


Рис. 44. Интеллектуальная капсула: а) – схема расположения в желудочно-кишечном тракте; б) – конструкция [46, 61]

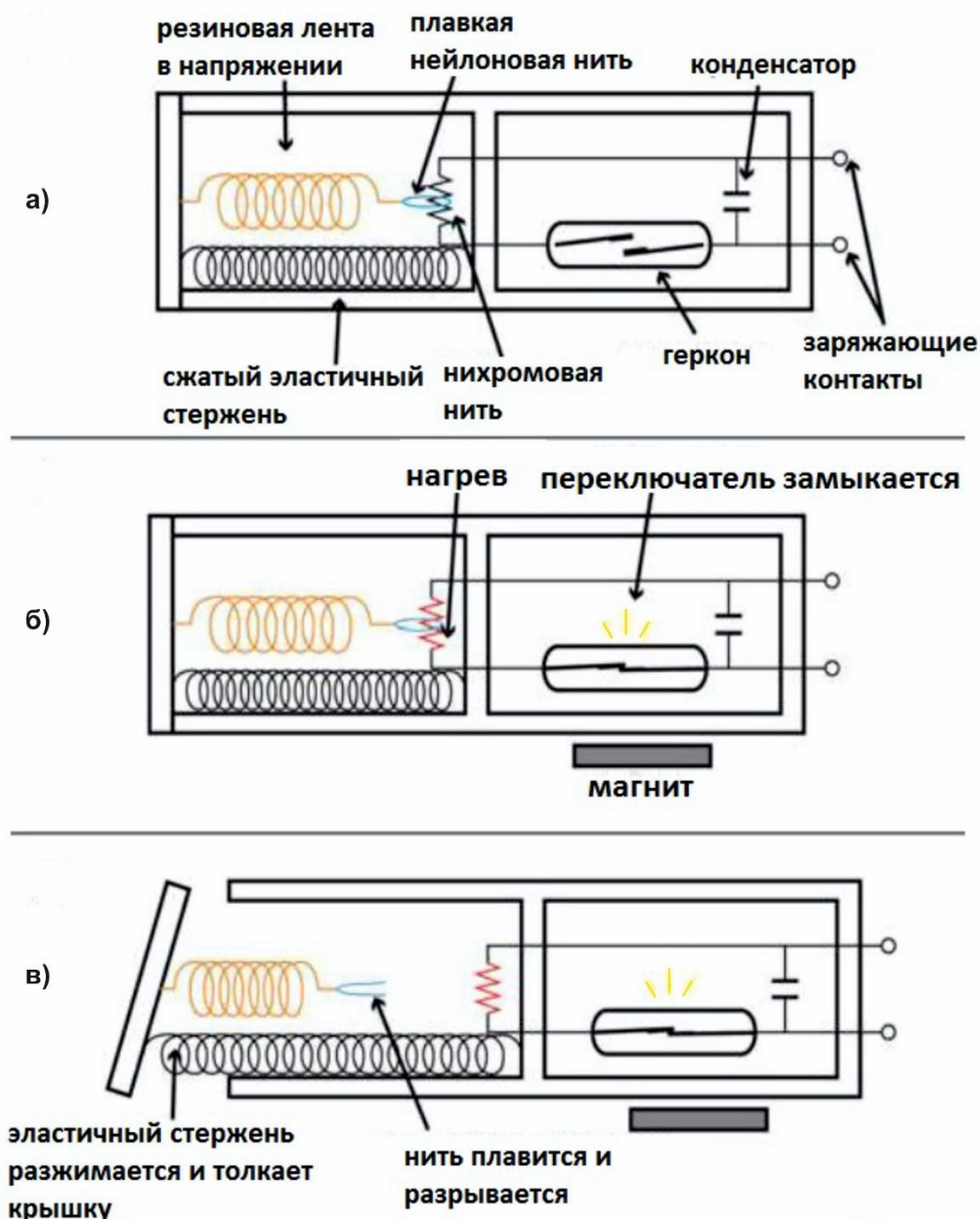


Рис. 45. Принцип работы интеллектуальной капсулы [46, 61]

Было показано, что подходящим местом для высвобождения лекарства является илеоцекальный клапан, разделяющий тонкую и толстую кишки [46, 61]. Таким образом, данное устройство может применяться для лечения различных заболеваний толстого кишечника, таких как рак толстой кишки, воспалительные заболевания кишечника, болезнь Крона и др.

3.2.3. Терапевтические моноклональные антитела

Моноклональные антитела представляют собой молекулы, получаемые в лабораториях таким образом, чтобы они стремились («прилипали») к определенным дефектам в раковых клетках [46]. Они способны имитировать природные антитела в человеческом организме. В последнее время моноклональные антитела находят всё большее применение для адресной доставки лекарств.

Уничтожение клеток может осуществляться различными механизмами, такими как прямое действие моноклональных антител, которое может включать блокирование рецепторов или индуцирование апоптоза, или же опосредованное действие посредством присоединенных к ним лекарств. Лекарство может действовать на клетки опухоли благодаря иммуно-регулируемым механизмам (комплементзависимая* цитотоксичность или зависимость от антител клеточная цитотоксичность и др.), а также действовать на сосудистую сеть опухоли. Все вышеназванные процедуры успешно применяются в клиниках. Большинство таких антител являются интактными (неповрежденными) молекулами иммуноглобулина G (IgG). «Загруженные» наночастицы и интактные иммуноглобулины являются основными конструкциями на основе антител в системах доставки лекарств. Они могут быть нацелены на трансмембранный гликопротеин, рецептор эпидермального фактора роста, трансферрин и др. [46]. Более подробно такие системы адресной доставки будут рассмотрены в следующей главе.

3.2.4. Применение фолата для адресной доставки лекарств

Фолиевая кислота (рис. 46) – витамин, необходимый для нуклеотидного синтеза и одноуглеродного метаболизма [46]. Фолиевая кислота и ее производные объединяются под общим названием «фолаты».

* Система комплемента – комплекс сложных белков, постоянно присутствующих в крови.

Способность накапливать фолат является важным свойством для жизнедеятельности и пролиферации клеток. Клеточный транспорт фолата регулируется с помощью фолатных переносчиков и/или фолат-связывающего белка, известного также как фолатный рецептор. Фолатный рецептор представляет собой гликозил-фосфатидилинозитол (GPI)-связанный мембранный гликопротеин с высокой аффинностью к фолиевой кислоте. Рецептор обеспечивает поглощение фолата клеткой путем рецептор-опосредованного эндоцитоза. Известны две мембрано-ассоциированные изоформы фолатного рецептора: α -тип и β -тип. Эти два подкласса рецепторов обладают примерно на 70% гомологичной* последовательностью, но проявляют различную специфичность к фолатам и их аналогам. Рецепторы α -типа всегда имеют большую аффинность к различным формам фолата по сравнению с β -типом, однако обе изоформы проявляют высокую аффинность к самой фолиевой кислоте.

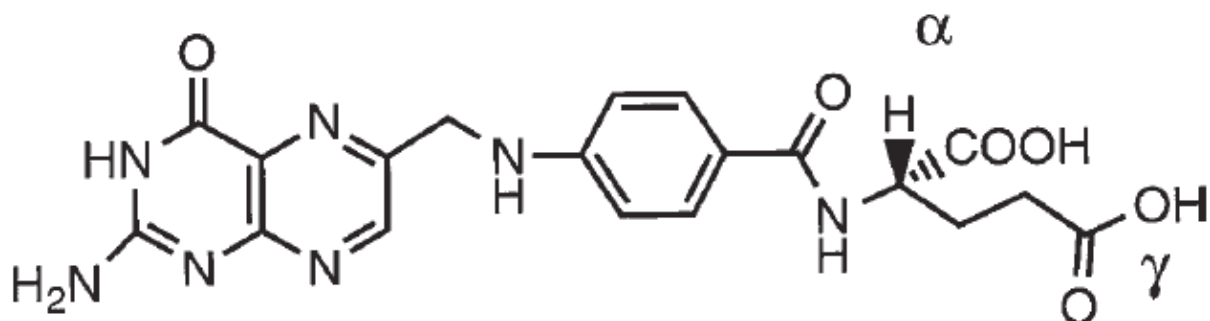


Рис. 46. Фолиевая кислота

У человека фолатный рецептор α -типа представлен в измеримых количествах только в определенных эпителиальных тканях*. Однако

* Гомологичными в биологии называются сопоставимые части сравниваемых биологических объектов.

* Эпителиальная ткань – слой клеток, выстилающий поверхность и внутренние полости тела, а также слизистые оболочки внутренних органов, пищевого тракта, дыхательной системы, мочеполовых путей.

тот же самый рецептор может содержаться в значительных количествах в злокачественных тканях эпителиального происхождения, включая многие типы рака. В противоположность, фолатный рецептор β -типа представлен практически во всех типах нормальных тканей, но в очень небольших количествах, а в злокачественных образованиях неэпителиального происхождения его содержание существенно выше. Следовательно, фолатный рецептор является многообещающей мишенью для адресной доставки лекарств к опухолям, поскольку он в большом количестве представлен во многих человеческих опухолях и практически отсутствует в здоровых тканях. В качестве направляющего лиганда, фолиевая кислота обладает рядом преимуществ по сравнению с моноклональными антителами:

- низкая иммуногенность (иммунные ответы «хозяина» против моноклональных антител или их фрагментов могут препятствовать повторному клиническому использованию конъюгатов лекарств с антителами);
- вследствие низкой молекулярной массы фолатные конъюгаты быстро проникают в опухоль, легко диффундируя через поверхность опухоли;
- сопротивляемость к разрушению под воздействием неблагоприятных условий хранения, таких как воздействие органических растворителей и повторное замораживание и размораживание;
- простая и хорошо известная химия конъюгирования с молекулами лекарств, что отражается в невысокой стоимости производства конъюгатов и легко осуществляемом контроле качества;
- высокая специфичность к опухолям.

ГЛАВА 4. Адресная доставка лекарств с использованием антител

Перспективным направлением развития систем адресной доставки лекарств являются иммунотоксины (ИТ), которые представляют собой гибридные белки, состоящие из направляющего антитела, соединенного с воздействующим на патогенные клетки токсином. Антитело определяет специфичность (способность распознавать и вступать в реакцию с мишенью), в то время как токсин определяет токсичность (способность к уничтожению мишени) [62]. Клинические испытания, как на мышах, так и на человеке, показали эффективность ИТ в уничтожении клеток опухоли, аутоиммунных клеток и клеток, зараженных вирусами.

4.1. Антитела

Антитела (иммуноглобулины, Ig) – белковые компоненты плазмы крови, образующиеся в ответ на введение в организм человека или теплокровных животных бактерий, вирусов, токсинов и других антигенов.

Антиген (англ. antigen от antibody-generator – «производитель антител») – любое вещество, которое организм рассматривает как чужеродное или потенциально опасное и против которого организм обычно начинает вырабатывать собственные антитела (иммунный ответ). Связываясь активными участками с бактериями или вирусами, антитела препятствуют их размножению или нейтрализуют выделяемые ими токсичные вещества.

Все мономерные иммуноглобулины имеют универсальное строение и состоят из двух одинаковых тяжелых H-цепей (от англ. Heavy, мол. масса 50–77 кДа) и двух одинаковых легких L-цепей (от англ. Light, мол. масса 25 кДа), удерживаемых вместе дисульфидными (–S–S–) связями. Между N-концами H- и L-цепей в углублении

расположен активный центр – сайт связывания антитела с антигеном. Активный центр называется «паратоп». Число сайтов связывания в молекуле иммуноглобулина определяет так называемую «валентность» антитела, то есть число возможных присоединений других молекул. Каждая цепь имеет два участка (рис. 47) [63]:

- постоянный участок, который остается неизменным в последовательности аминокислот и антигенности в пределах данного класса иммуноглобулинов;
- меняющийся (вариабельный), который характеризуется непостоянностью последовательности аминокислот; в этой части цепи происходит реакция соединения с антигеном.

На вариабельном участке каждой цепи имеются гипервариабельные участки: три в легких цепях и четыре в тяжелых. Разновидности последовательности аминокислот в этих гипервариабельных участках определяют специфичность антитела.

При расщеплении иммуноглобулинов ферментами образуются следующие фрагменты (рис. 47):

- Fc (англ. fragment crystallizable – фрагмент, способный к кристаллизации) – фрагмент содержит участки обеих постоянных частей, не обладает свойством антитела, но имеет сродство с компонентом;
- Fab (англ. fragment antigen binding – антиген-связывающий фрагмент) – фрагмент содержит легкую и часть тяжелой цепи с одним антигенсвязывающим участком, обладает свойством антитела;
- F(ab)₂ – фрагмент состоит из двух связанных между собой Fab-фрагментов.

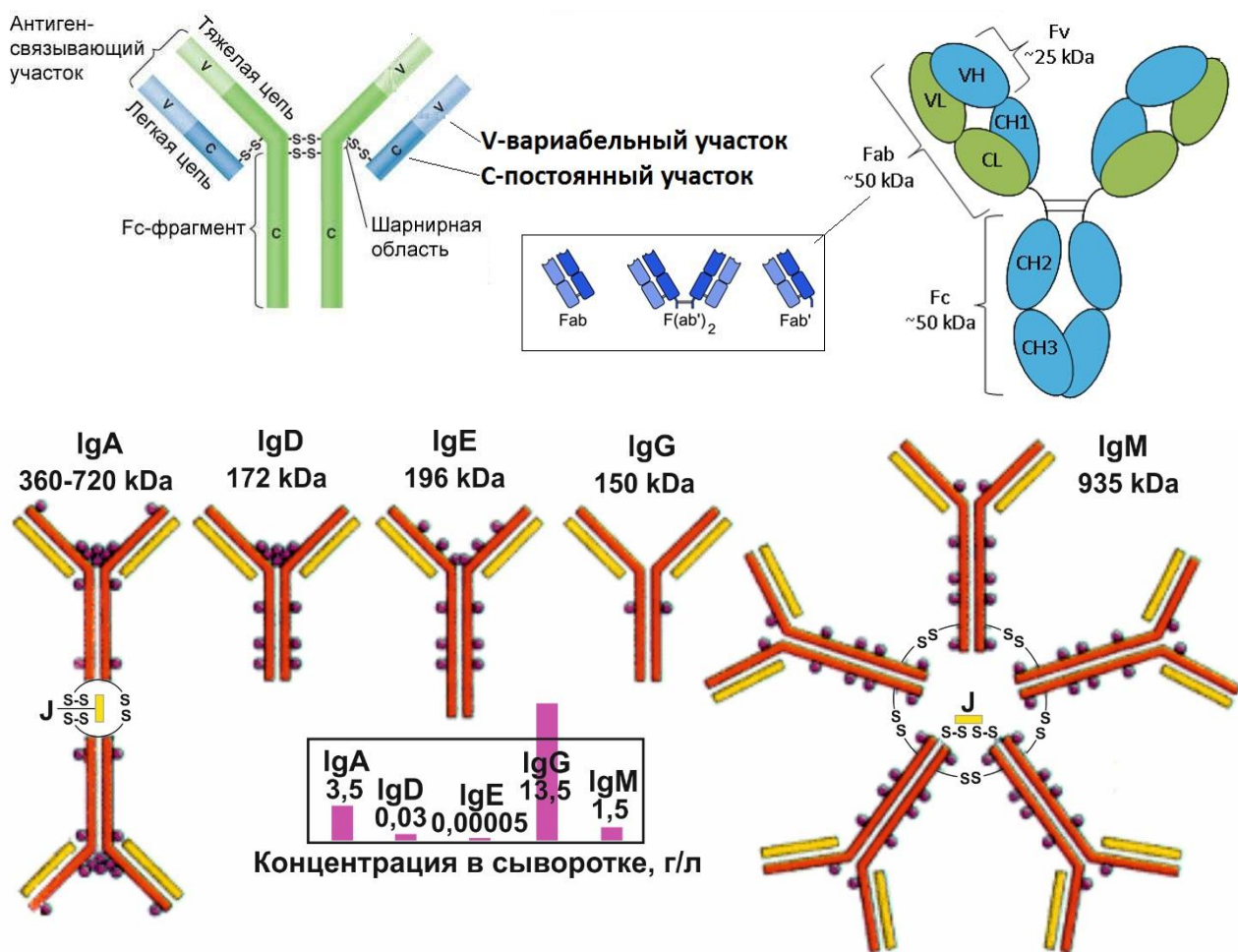


Рис. 47. Участки антител (сверху) и классы иммуноглобулинов (снизу) [64–66]

У большинства высших млекопитающих и человека обнаружено пять классов иммуноглобулинов: IgG, IgA, IgM, IgD и IgE, которые различаются по размерам молекул, заряду, аминокислотному составу и содержанию углеводов (рис. 47) [66].

Иммуноглобулины субкласса G (IgG) (75% от общего количества в организме человека) – мономеры, включающие в себя четыре суб-класса (IgG1; IgG2; IgG3; IgG4), которые отличаются друг от друга по аминокислотному составу и антигенным свойствам.

Свойства иммуноглобулинов субкласса G:

- играют основополагающую роль в гуморальном (внеклеточном) иммунитете при инфекционных заболеваниях;

- проникают через плаценту и формируют антиинфекционный иммунитет у новорожденных;
- способны нейтрализовать бактериальные экзотоксины, связывать комплемент, участвовать в реакции преципитации*.

Иммуноглобулины субкласса М (IgM) (5–10% от общего количества) могут активировать систему комплемента, выполняют функцию мембранных рецепторов: 50000–150000 молекул на одну клетку, первыми синтезируются организмом новорожденных, их содержание повышается в течение первой недели и к году достигает уровня, соответствующего взрослым. Иммуноглобулины М включают в себя два субкласса: IgM1 и IgM2.

Свойства иммуноглобулинов субкласса М:

- не проникают через плаценту;
- появляются у плода и участвуют в антиинфекционной защите;
- способны агглютинировать** бактерии, нейтрализовывать вирусы, активировать комплемент;
- играют важную роль в элиминации возбудителя из кровеносного русла, активации фагоцитоза;
- образуются на ранних сроках инфекционного процесса;
- отличаются высокой активностью в реакциях агглютинации, лизиса*** и связывания эндотоксинов грамотрицательных бактерий.

Иммуноглобулины субкласса А (IgA) (10–15% от общего количества) секретируются в различные жидкости тела и обеспечивают

*Реакция преципитации – формирование и осаждение комплекса растворимого молекулярного антигена с антителами.

** Агглютинация (лат. agglutinatio – приклеивание) – склеивание и выпадение в осадок из однородной взвеси бактерий, эритроцитов и др. клеток, несущих антигены.

*** Лизис – разрушение клеток, а также микроорганизмов, под действием ферментов.

секреторный иммунитет, синтезируются со 2–3-й недели зарождения плода эмбриона. Иммуноглобулины А включают в себя два субкласса: IgA1 и IgA2. В состав IgA входит секреторный компонент, состоящий из нескольких полипептидов, который повышает устойчивость IgA к действию ферментов.

Свойства иммуноглобулинов субкласса А:

- содержатся в молоке, слюне, слезном, бронхиальном и желудочно-кишечном секрете, желче, моче и определяют локальный иммунный ответ;
- препятствуют прикреплению бактерий к слизистой;
- нейтрализуют энтеротоксины^{*}, активируют фагоцитоз и комплемент.

Иммуноглобулины субкласса E (IgE) (0,2% от общего количества) прикрепляются к специфическим рецепторам на поверхности тучных клеток и базофилов и, если они связываются с антигеном, из клеток начинают высвобождаться заключенные в них биологически активные вещества, вызывая аллергические реакции. Иммуноглобулины E – это момеры. Их содержание в сыворотке крови ничтожно мало. К этому классу относится основная масса аллергических антител – реагинов. Уровень IgE значительно повышается у людей, страдающих аллергией и зараженных гельминтами.

Иммуноглобулины субкласса D (IgD) (0,2% от общего количества) – это момеры, которые функционируют, в основном, в качестве мембранных рецепторов для антигена. Плазматические клетки, секретирующие IgD, локализуются преимущественно в миндалинах и аденоидной ткани.

Свойства иммуноглобулинов D:

- участвуют в развитии местного иммунитета;

^{*}Энтеротоксин – токсин, продуцируемый некоторыми видами бактерий при их паразитировании в кишечнике.

- обладают антивирусной активностью;
- активируют комплемент (в редких случаях);
- участвуют в дифференцировке В-клеток, способствуют развитию антиидиотипического ответа;
- участвуют в аутоиммунных процессах.

4.2. Присоединение антител к токсину

Присоединение антитела к токсину может быть осуществлено с помощью одного из двух общепринятых методов: химического или генетического [49]. В химическом методе создания иммунотоксинов используются реагенты, соединяющие антитело и токсин (рис. 48 а). В генетическом методе для создания смешанных белков антитело-токсин применяются гибридные гены *Escherichia coli* (кишечной палочки) (рис. 48 б).

Для формирования иммунотоксинов используются два основных типа химических связей: дисульфидные и тиоэфирные (рис. 49). Дисульфидные связи склонны к разрушению в цитоплазме клеток-мишеней. Таким образом, ингибирующая активность токсина проявляется только в клетках, связывающихся с фрагментом антитела. Этот тип ковалентной связи представлен в иммунотоксинах, содержащих одноцепочечные растительные токсины (цепь А рицина, порошок антивирусного белка, сапорин, гелонин и др.). Поскольку ферменты млекопитающих не могут гидролизовать тиоэфирные связи, конъюгаты такого рода токсинов и антител не будут проявлять цитотоксичность по отношению к целевым клеткам. Однако существуют два исключения. К первому относится иммунотоксин, содержащий интактный токсин рицина, который состоит из двух полипептидных цепей, связанных дисульфидной связью: цепи В, с помощью которой токсин связывается с рецептором клетки, и цепи А, что и обуславливает ферментативную активность токсина. Если антитело присоединяется к токсину с помощью цепи В, то токсичная цепь А может быть отделена от цепи В во внутриклеточной жидкости целе-

вых клеток путем разрыва дисульфидной связи в молекуле рицина (рис. 49). Второе исключение – это иммунотоксин, созданный с помощью экзотоксина *Pseudomonas* (псевдомонады). Экзотоксин псевдомонады может быть присоединен к антителу посредством тиоэфирной связи. Данный токсин содержит пептидную связь, расщепляемую внутри клеток протеазами*, что приводит к высвобождению токсичного фрагмента, который, в свою очередь, присоединен к остальной части молекулы дисульфидной связью (рис. 49).

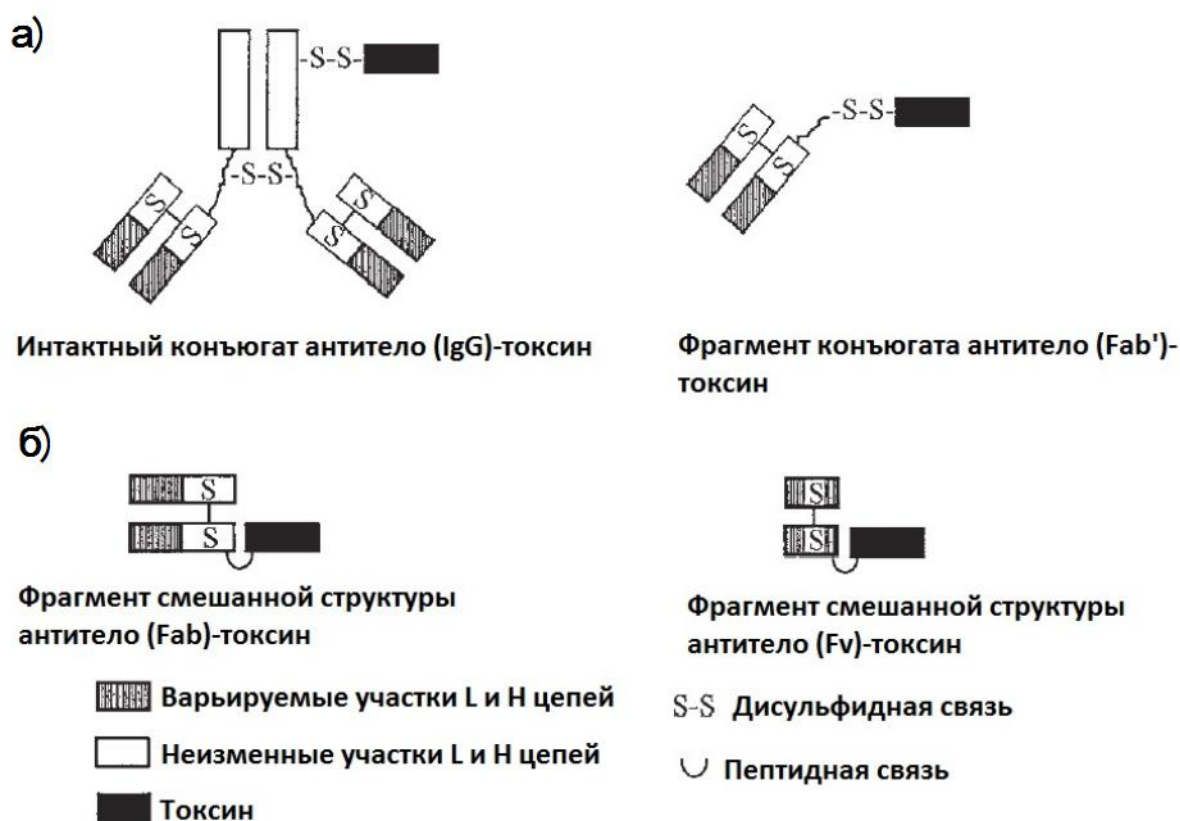


Рис. 48. Структура конъюгатов антитело–токсин, полученных:
 а) – химическим или б) – генетическим способом (L-цепь – легкая цепь, H-цепь – тяжелая цепь иммуноглобулина) [62]

*Протеазы – ферменты, разрушающие пептидную связь между аминокислотами в белках.

«сайты» (функциональные группы) вместе с присоединенным гибридным комплексом токсина с антителом впоследствии захватываются внутрь клетки с помощью рецептор – опосредованного эндоцитоза. Выход токсина из клеточных везикул и переход его в цитозоль происходит медленно (~24 ч).

Одно из преимуществ этого подхода заключается в том, что он позволяет доставлять чувствительные к параметрам внешней среды и легко деградирующие в организме биоактивные молекулы в клетки в неизменном виде. Нет необходимости во внешней модификации их структуры для присоединения к переносчику, поскольку они присоединяются к содержащему антитело фрагменту с помощью нековалентных связей [62].

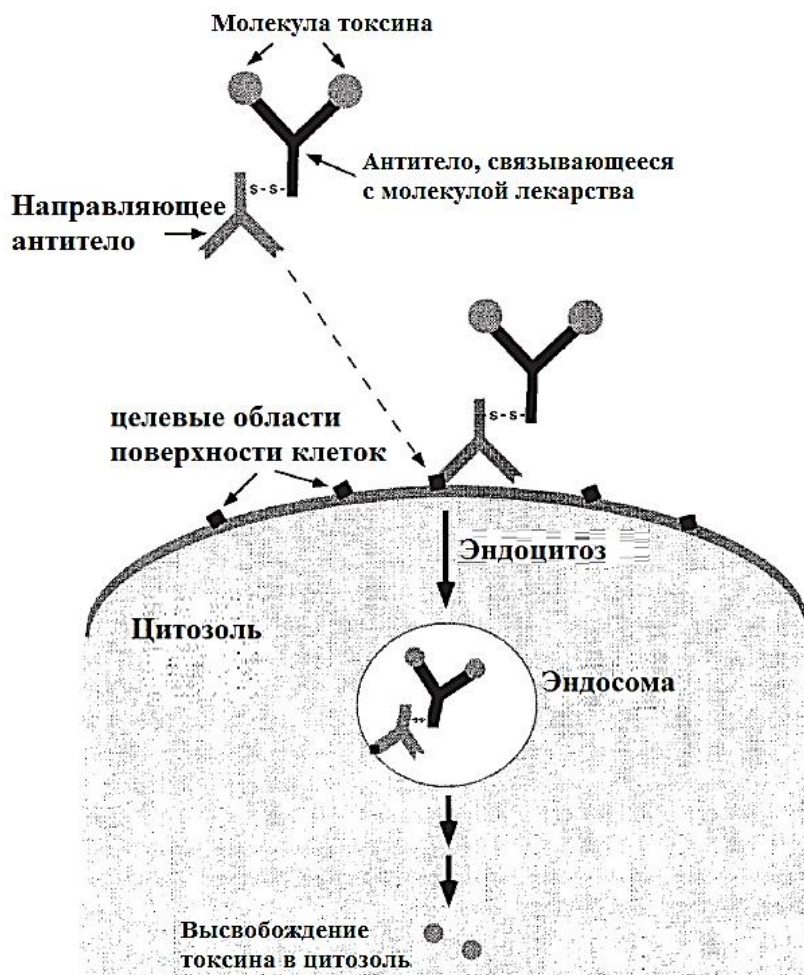


Рис. 50. Внутриклеточная доставка токсинов с использованием биспецифических антител [62]

4.3.1. Кисотно-стимулируемое высвобождение эффектора из биспецифических антител

В первых работах по разработке систем доставки на основе биспецифических антител использовался растительный токсин рицина или его ферментативно активная цепь А в качестве биологического агента для внутриклеточной доставки, в то время как в последующих работах – сапорин или гелонин. Проникновение их в цитозоль было подтверждено тем, что эти токсины блокировали синтез белков, что возможно только в том случае, если они повреждают внутриклеточную РНК. Несмотря на то, что биспецифические комплексы антитело-токсин проникали в цитозоль и специфически убивали клетки-мишени, ни механизм диссоциации антитело-токсин, ни внутриклеточный отсек, в котором происходит высвобождение эффектора (действующего вещества, компонента), не были известны. Тот факт, что для детектирования соответствующего ингибирования белкового синтеза требовалось 12–24 ч, позволил предположить, что доставка токсичного фрагмента в соответствующие отсеки клетки и выход в цитозоль является ограничивающим скорость высвобождения этапом.

Для преодоления этого ограничения были разработаны новые биспецифические реагенты второго поколения, которые позволяют контролировать механизм, локализацию и скорость высвобождения эффектора в клетках-мишенях. Это оказалось возможным вследствие того, что комплексы, поглощаемые клетками с помощью эндоцитоза, быстро транспортируются в эндосомы, в которых устанавливается кислая среда (рН 4,5–5,5). Изменение рН используется в качестве метода точного запуска быстрой диссоциации активных молекул из биспецифических антител (рис. 51). Механизм высвобождения основан на индуцируемых низким уровнем рН конформационных изменениях, которым подвергаются в кислой среде эндосомальных везикул биологически активные молекулы, такие как дифтерийный токсин. Кисотно-стимулируемая доставка была реализована путем создания

биспецифических реагентов на основе определенных моноклональных антител, которые связывались с природным токсином при нейтральном pH. При этом токсин быстро высвобождался при изменении его конформации в слабокислой среде (рис. 51).

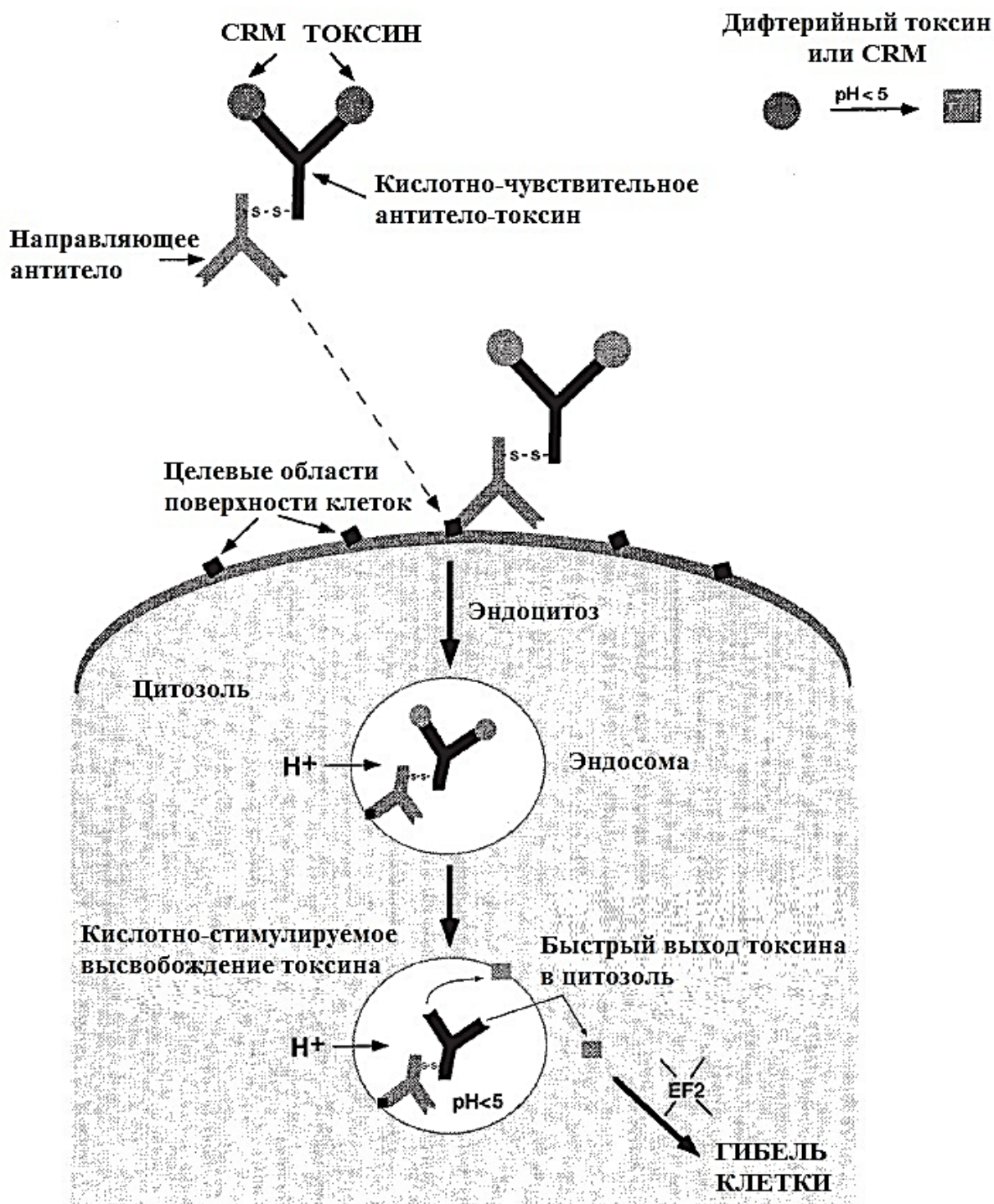


Рис. 51. Быстродействующая кислотно-стимулируемая система доставки на основе биспецифического антитела [62]

Эта новая кислотно-стимулируемая система доставки аналогична системе, представленной на рис. 50. Однако моноклональное антитело, которое связывается с токсином, сопряжено с конформационным эпитопом^{*}, структура которого изменяется в слабокислой среде эндосомы. К таким рН-чувствительным эффекторным молекулам относятся дифтерийный токсин и определенные связывающиеся с клетками дефектные мутантные формы этого токсина. Такой комплекс «биспецифическое антитело – токсин» спонтанно диссоциирует при $\text{pH} < 5,0$ в эндосоме^{**}. Токсин переходит в цитозоль, где он блокирует синтез белка и убивает клетку. Воздействие токсина, доставляемого кислотно-стимулируемым комплексом с биспецифическим антителом, проявляется в течение 2 ч от начала введения препарата.

4.3.2. Бинарный способ доставки на основе биспецифических антител

Кислотно-стимулируемые гибридные антитела были использованы при разработке бинарных систем для нацеливания токсинов, которые могут существенно уменьшить неспецифическую токсичность препарата и соответственно улучшить специфичность к клеткам-мишеням. Бинарная система доставки дифтерийного токсина включает два биспецифических антитела, одно из которых связывается с каталитическим доменом дифтерийного токсина, а другое – с его трансмембранным доменом. Таким образом, биспецифические антитела могут быть использованы для доставки комплементарных частей

^{*}Эпитоп – часть макромолекулы антигена, которая распознаётся иммунной системой.

^{**}Эндосома – мембранная внутриклеточная органелла, один из типов везикул, образующаяся при слиянии и созревании эндоцитозных пузырьков. Зрелые эндосомы представляют собой образования размером 300–400 нм.

молекулы токсина к двум различным целевым сайтам одной клетки. В приведенном на рисунке 52 примере одно кислотно-стимулируемое биспецифическое антитело доставляет каталитический домен (С) дифтерийного токсина к определенному рецептору, в то время как второе антитело переносит трансмембранный домен (Т) к другому рецепторному сайту. Соединение этих функциональных групп происходит тогда, когда оба комплекса попадают в одну эндосому, где домены токсина связываются и высвобождаются в кислой среде, что приводит к гибели клетки. Каждый компонент по отдельности является нетоксичным, токсичность они приобретают при соединении друг с другом внутри клеток мишеней в кислой среде одной эндосомы. Эта особенность позволяет нацеливать каждый компонент на различные отдельные рецепторные сайты клеток – мишеней (рис. 52), существенно улучшая селективность, поскольку уничтожаться будут только эти выбранные типы клеток, клетки, имеющие оба детерминанта (целевых рецептора), в то время как клетки, которые обладают только одним из двух целевых сайтов, останутся нетронутыми. Эта стратегия обычно применима к системам доставки токсинов, которые могут быть физически разделены на два или более компонента, по отдельности являющихся нетоксичными. В дополнение к улучшенной специфичности, такая бинарная система доставки позволяет вводить нетоксичные фрагменты воздействующей молекулы при очень высоких концентрациях, не вызывая нежелательные побочные эффекты [49].

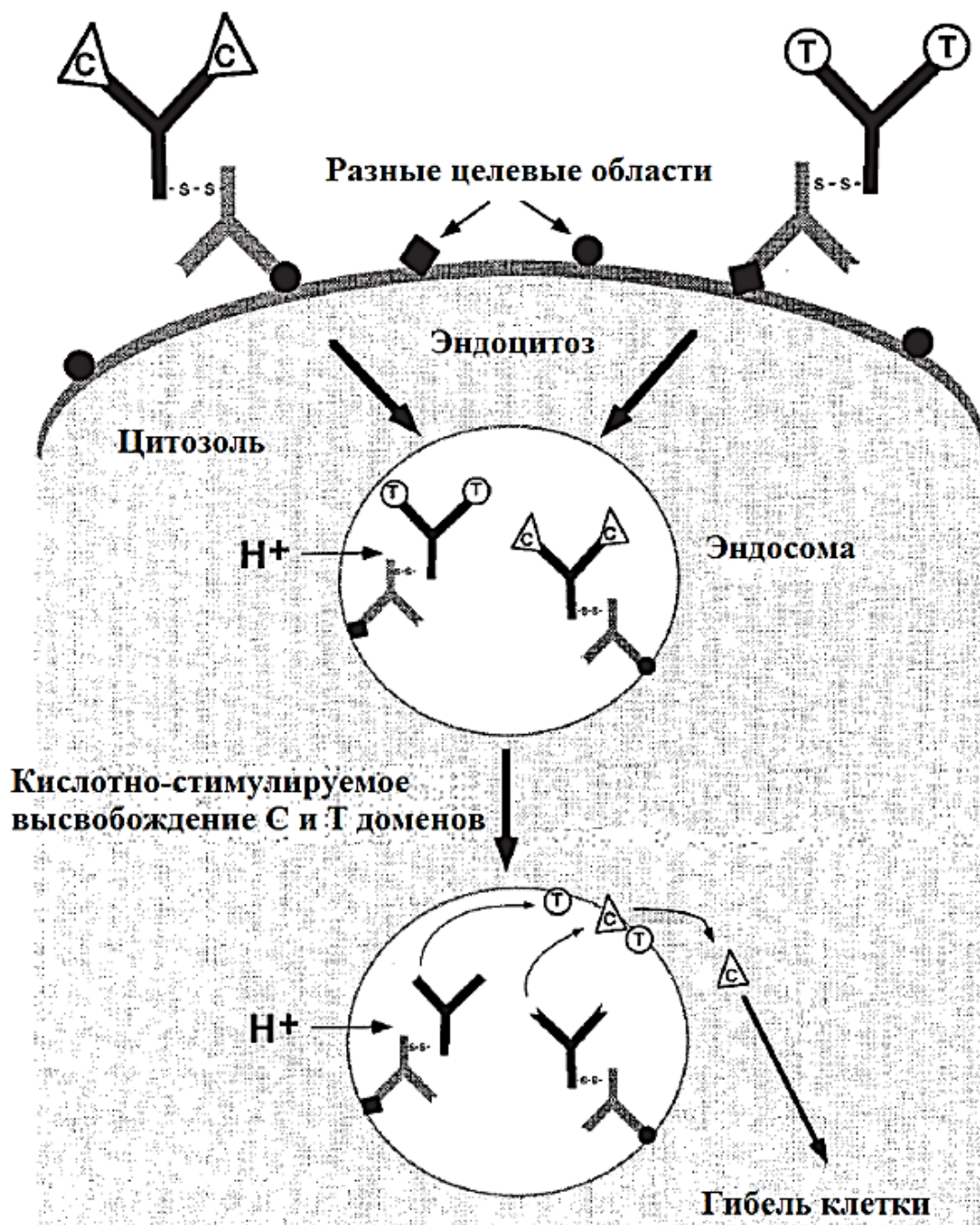


Рис. 52. Схема механизма бинарной доставки дифтерийного токсина, его каталитический (С) и трансмембранный (Т) домены по отдельности являются нетоксичными [62]

ГЛАВА 5. Интеллектуальные системы диагностики и доставки лекарств

5.1. История развития интеллектуальных систем для доставки лекарств

Одним из современных направлений развития систем доставки лекарств является разработка интеллектуальных систем («умных» капсул) для персонифицированной медицины. Персонифицированная система доставки подразумевает собой выбор дозы лекарства в соответствии с особенностями пациента и необходимой локализации, которая будет контролироваться сенсорами, установленными в «умной» капсуле. Автономное устройство, оснащённое соответствующими сенсорами (например, pH, датчик температуры и др.), может определять, куда, к какому моменту времени, в каком количестве доставлять препарат для повышения эффективности терапии.

Главным приложением таких систем доставки является лечение заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (рис. 53). Заболевания ЖКТ, зачастую, имеют фатальный исход. Они являются одними из самых распространенных причин госпитализации. По статистике в США 60–70 млн. людей страдало от заболеваний пищеварительного тракта в 2010 г., из них 21,7 млн. были госпитализированы, и в примерно 250000 случаях это привело к летальному исходу [67].

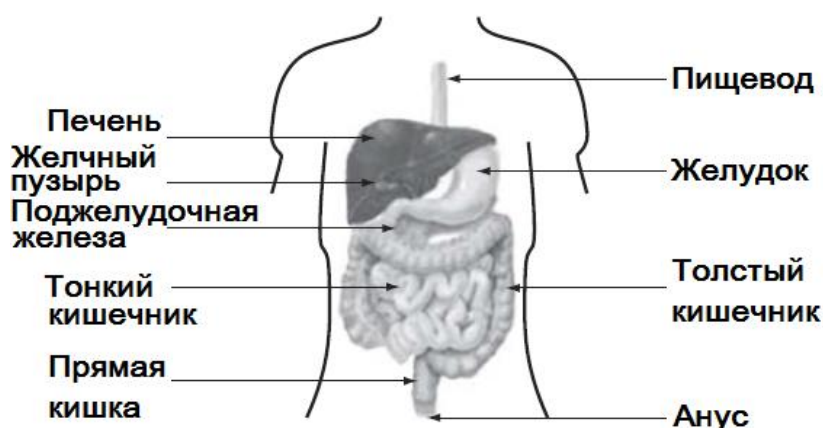


Рис. 53. Схематическое изображение желудочно-кишечного тракта

Увеличение распространенности заболеваний ЖКТ вкупе с высокой стоимостью лечения привело к росту технологического сектора разработки заглатываемых интеллектуальных устройств. По прогнозам интеллектуальные таблетки станут широко распространенными *тераностическими* устройствами, поскольку они объединяют в себе терапевтические и диагностические функции.

Можно выделить две категории специфических приложений интеллектуальных таблеток: капсулы для эндоскопии и капсулы для доставки лекарств с одновременным мониторингом пациентов (диагностики и терапии). В настоящее время коммерциализированы только капсулы для эндоскопии. Эндоскопия включает гастроскопию, энтероскопию, колоноскопию и ректоскопию. Клинические исследования показали, что эндоскопия с помощью капсул может предоставить более дешевые решения по сравнению с проводными эндоскопами. Более того, капсулы могут быть доставлены глубоко в тонкий кишечник, являющийся, обычно, недоступной зоной для проводных эндоскопов. Применение «умных» таблеток для систем доставки позволит проводить терапию с помощью орального введения, которое является более предпочтительным по сравнению с введением через кожу и имплантируемым введением вследствие более низкой стоимости и легкой переносимости пациентами.

Эволюция техники эндоскопии схематически представлена на рисунке 54 [67]. Первым оптическим инструментом было введенное в ЖКТ Ф. Боззини устройство, снабженное внешним источником света. Воздушную продувку впервые применил Д. Келлинг в 1901 г. для осмотра брюшной полости собак с помощью цистоскопа (прибор для исследования уретры). Гибкий волоконно-оптический гастроскоп был изобретен Г. Хопкинсом в 1951 г. Исторически первые разработки «умных» таблеток (заглатываемых капсул) были начаты в 1950-х гг. (рис. 54). Первая заглатываемая капсула была способна измерять давление в тонком кишечнике пациентов, страдающих от дизентерии. После этого начались исследования возможности интегрирования

в капсулы миниатюрных сенсорных систем (напр., для визуализации, измерения давления, рН, температуры). Однако заглатываемые капсулы мало применялись в клиниках вследствие ограничений, связанных с недостатком подходящей электроники, плохого ее качества и высокой цены. В противоположность этому, проводные эндоскопы, снабженные ПЗС-матрицей* или оптоволоконной камерой, нашли широкое применение. Фактически, недостатки стандартных эндоскопических процедур относятся к процессу ввода эндоскопа, который требует предварительного нагнетания воздуха в канал, для чего часто необходимо обездвижить пациента. Решением данной проблемы является применение беспроводной капсульной эндоскопии (WCE – wireless capsule endoscopy), введенной в практику в 2000-х годах фирмой Given Imaging. Сегодня коммерчески доступные капсулы используют для выполнения процедур в различных элементах ЖКТ, таких как пищевод, желудок и тонкий кишечник. Примеры эндоскопических капсул от разных производителей приведены на рисунке 55 [67].

В настоящее время основные усилия исследователей направлены на внедрение в заглатываемые капсулы механизмов, обеспечивающих навигацию и локализацию устройств в областях, которые нуждаются в лечении. Это обстоятельство требует разработки систем адекватного позиционирования и перемещения. Решение этой проблемы позволит использовать интеллектуальные капсулы в качестве систем адресной доставки лекарств.



Рис. 54. Эволюция эндоскопии [67]

* ПЗС-матрица – специализированная аналоговая интегральная микросхема, состоящая из светочувствительных фотодиодов, выполненная на основе кремния.

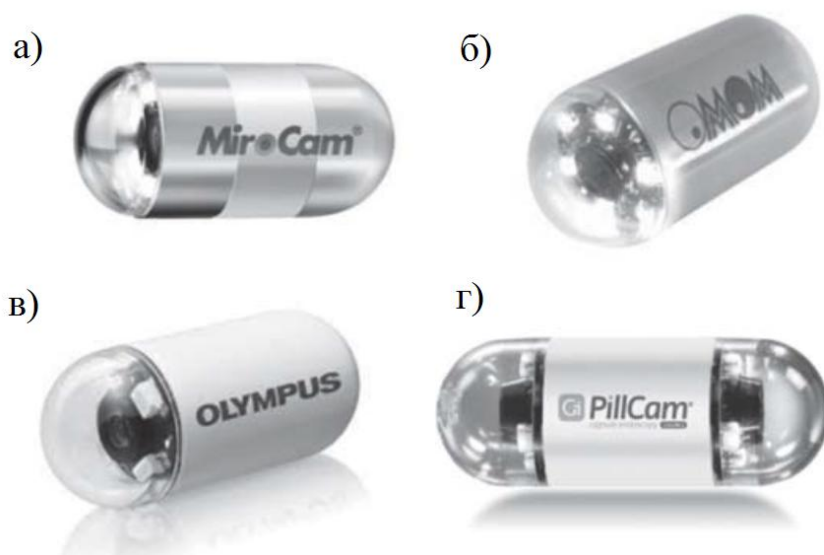


Рис. 55. Внешний вид коммерческих эндоскопических капсул.
 а) – MicroCam от Intromedic Co., б) – OMOM от Chingqing Jinshan Science and Technology group; в) – Endocapsule от Olympus, Inc.,
 г) – PillCam Colon2 от Given Imaging, Inc [67]

5.2. Требования, предъявляемые к интеллектуальным системам доставки

Анатомия ЖКТ накладывает ограничения на размер устройства и время передвижения по его различным участкам (элементам). К примеру, большая площадь поверхности тонкого кишечника (около 600 м^2) улучшает его способность к адсорбции лекарств, однако этот элемент тракта достаточно длинный и извилистый, что делает передвижение капсулы по нему затруднительным. Ограничения на размер капсулы, главным образом определяются наименьшим сечением в ЖКТ, который характерен для пищевода со средним диаметром сечения 2 см. Типичные размеры заглатываемых капсул составляют 10 мм в диаметре, 25 мм в длину с объемом около 3 см^3 . Время транзита варьируется от одного элемента ЖКТ к другому и изменяется в зависимости от специфики болезни или возраста пациента.

Главным улучшением в беспроводной капсульной эндоскопии (БКЭ), позволяющим перейти от эндоскопических капсул

к терапевтическим устройствам, является интеграция активной системы перемещения для обеспечения надежного контроля положения устройства в ЖКТ в процессе навигации, уменьшающего неточности, вносимые перистальтикой. Перистальтика представляет собой волнообразное сокращение стенок полых трубчатых органов (пищевода, желудка, кишечника, мочеточников и др.), способствующее продвижению их содержимого. Кроме того, для обеспечения высвобождения препарата в заданной области организма необходимо снабдить капсулу устройствами, обеспечивающими ее остановку и фиксацию в различных зонах ЖКТ.

Другим ключевым вопросом является обеспечение электрического питания устройства. Следует отметить, что устройства, оснащенные системами активного передвижения и активными механизмами, такими как насосы, клапаны и т.п., требуют большего количества электроэнергии для функционирования, чем пассивные устройства. Желательно также обеспечить совместимость активных устройств с системами визуализации. Однако, хотя визуализация нужна для скрининговых капсул, она не является обязательной при использовании капсул в терапии. Ее исключение позволяет сэкономить пространство для размещения других систем и элементов, таких как система доставки лекарств, система передвижения и батареи электропитания.

Критичным является выбор материалов, которые должны быть достаточно прочными и обладать биосовместимостью. Капсулы выполняются из биоинертных полимеров или покрываются пленками из биосовместимых материалов, которые остаются физически и химически стабильными в процессе хранения лекарства и непроницаемыми для желудочных жидкостей. В целом, заглатываемые капсулы для систем доставки требуют технологического развития в следующих областях: микрообработка, микроактивация, сенсбилизация, локализация и телеоперация [67].

5.3. Механизмы высвобождения лекарства интеллектуальными системами доставки

Лекарство может высвобождаться из интеллектуальных капсул пассивно или за счет активных механизмов. В пассивных интеллектуальных системах доставки лекарство высвобождается за счет различных физических (например, диффузия) или химических процессов, запускаемых в ответ на определенные изменения условий окружающей среды, таких как температура, pH и др. Соответственно высвобождение зависит от специфических условий в целевой локализации. В противоположность этому, активные механизмы подразумевают возможность высвободить лекарство из резервуара тогда, когда активируется специальный механизм высвобождения. Устройства используемых на практике механизмов схематически приведены на рисунках 56, 57.

5.3.1. Пассивные механизмы высвобождения

Рассмотрим несколько примеров интеллектуальных капсул с различными механизмами высвобождения лекарства. Одной из первых заглатываемых капсул для доставки лекарств была высокочастотная капсула (HF капсула, рис. 56 а), разработанная в 1980-х гг. в институте Баттелля V (Германия) [67]. Она активируется с помощью радиочастотного (РЧ) сигнала, генерируемого внешним высокочастотным генератором электромагнитных волн. Тепло, создаваемое РЧ излучением, расплавляет нить, при этом удерживавшаяся ею игла высвобождается и протыкает латексный шар, окружающий отсек с лекарством, что позволяет ему вытекать через отверстие в стенках капсулы.

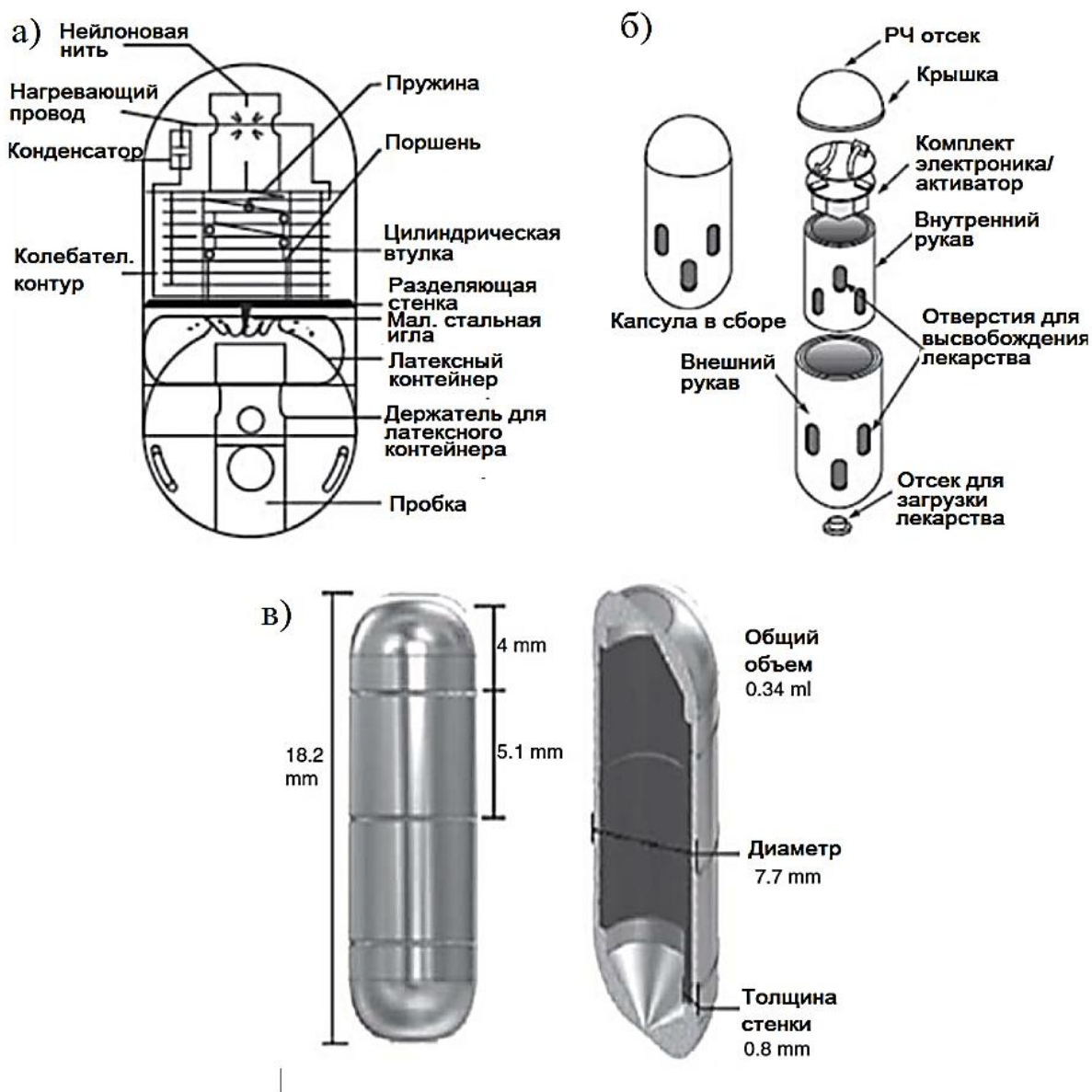


Рис. 56. Капсулы с пассивными механизмами высвобождения: а) – капсула, активируемая РЧ сигналом (Институт Баттелля V, Германия); б) – капсула Intelisite с электромагнитной активацией (Scintipharma, Inc.); в) – капсула MAARS, активируемая магнитным полем [67]

Другая интеллектуальная таблетка, Intelisite (Scintipharma, Inc., рис. 56 б), состоит из двух основных частей: внешней оболочки и внутренней клетки, примыкающей к внешней оболочке. Внутренняя клетка запирается пружиной, которая удерживается в сжатом

состоянии двумя проволочными зажимами из сплава с памятью формы* (СПФ). Создаваемое внешним источником электромагнитное излучение активирует капсулу. Нагревание проводных зажимов высвобождает пружину, которая перемещает внутреннюю клетку наружу во внешнюю оболочку. Таким образом, выход лекарства в окружающую среду в виде жидкости или порошка может происходить через две боковые щели в капсуле. Главным ограничением этого метода является медленная активация и возможные при этом ошибки, которые могут возникнуть, в частности, если капсула находится глубоко в теле. В дополнение к этому, может возникнуть утечка лекарства до достижения целевой области в случае неидеальной герметизации внешней оболочки. Отметим, что из общего объема капсулы 2,75 мл примерно 30% занимает резервуар с лекарством.

Еще одним способом запуска высвобождения лекарства является воздействие магнитным полем. Примером такой системы является система MAARS (Magnetic Active Agent Release System Capsule, Matesy GmbH, рис. 56 в). Механизм высвобождения лекарства включает магнитный переносчик лекарства и систему инициации высвобождения лекарства. Стенка переносчика состоит из отдельных ферромагнитных частей (магнетики), которые притягиваются друг к другу, удерживая капсулу в закрытом состоянии в процессе навигации. Как только цель (орган-мишень) достигнута, внешнее магнитное поле размагничивает стенки капсулы, она открывается, а ее содержимое высвобождается.

* Эффект памяти формы – явление возврата к первоначальной форме при нагреве, которое наблюдается у некоторых материалов после предварительной деформации, например, TiNi.

5.3.2. Активные механизмы высвобождения

Активные механизмы высвобождения позволяют обеспечить лучший контроль положения капсулы в процессе доставки лекарств. Используемые устройства часто включают поршни для выталкивания лекарства из резервуара. Рассмотрим некоторые из них [67].

В капсуле IntelliCap (Philips Research) (рис. 57) поршень, перемещаемый с помощью шагового двигателя со шнековым механизмом, выталкивает лекарство из резервуара через дозирующее отверстие. Капсула может высвободить полностью загруженное содержимое в течение 10 мин (скачкообразное высвобождение) или в течение нескольких часов (длительное высвобождение) при объеме медикамента 300 мкл. Доставка точно контролируется с использованием pH сенсоров в ЖКТ для обеспечения персонифицированного лечения.

Другим устройством, активируемым внешним магнитным полем, является эндоскопическая капсула MASCE (Magnetically Actuated Soft Capsule Endoscope). Когда внешний магнит подходит близко к капсуле, она аксиально сжимается двумя внутренними магнитами, вследствие чего отсек с лекарством, находящийся между ними, сжимается, и при достижении критического сжатия лекарство высвобождается через открывающиеся при этом отверстия. Преимуществом такой системы является возможность выпуска лекарства несколькими дозами и лучший контроль скорости высвобождения. Для успешного высвобождения необходимо обеспечить точное взаимное расположение внутреннего и внешнего магнитов.

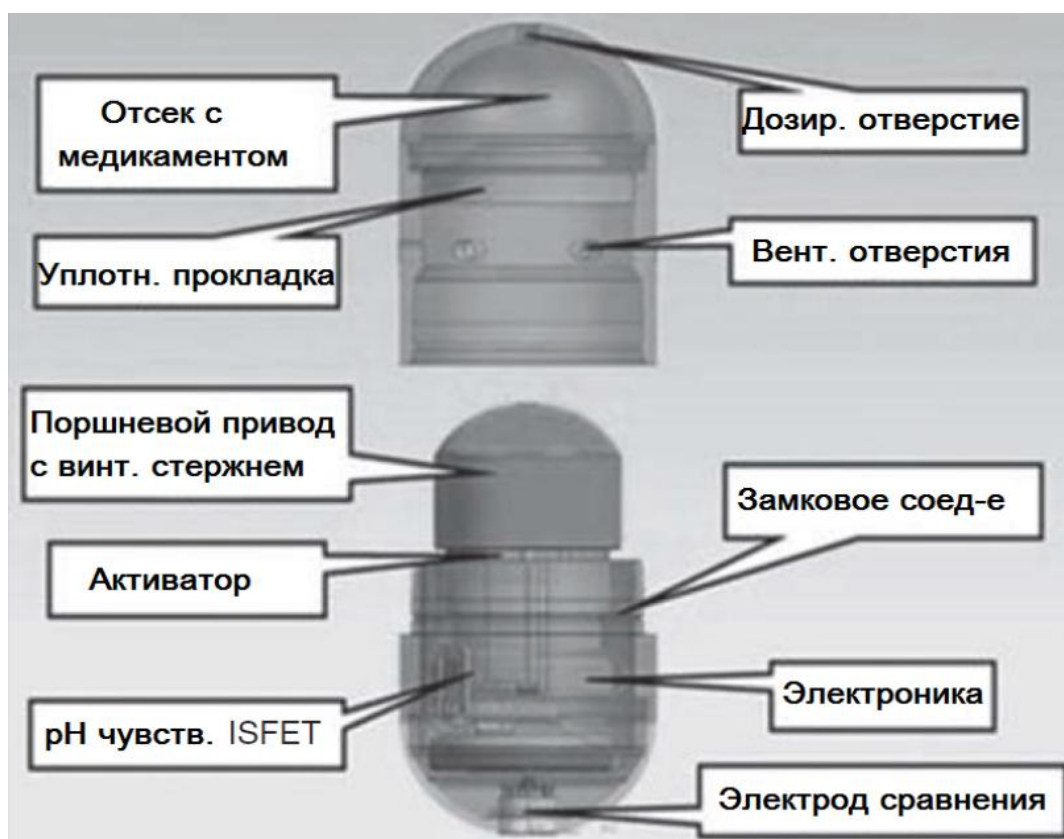


Рис. 57. Капсула IntelliCap (Philips Research) с активным механизмом высвобождения лекарства, активируемая pH [67]

В капсуле Enterion от Phaeton Research (рис. 58) используется механизм высвобождения, основанный на активации системы поршень/пружина. Она включает РЧ антенну, которая получает внешний активирующий сигнал, радиочастотный отсек, отслеживающий положение капсулы в ЖКТ, пружину из СПФ и нагреватель, нагрев которого происходит под действием внешнего РЧ излучения. При нагреве пружина перемещает поршень, выталкивающий лекарство из резервуара.

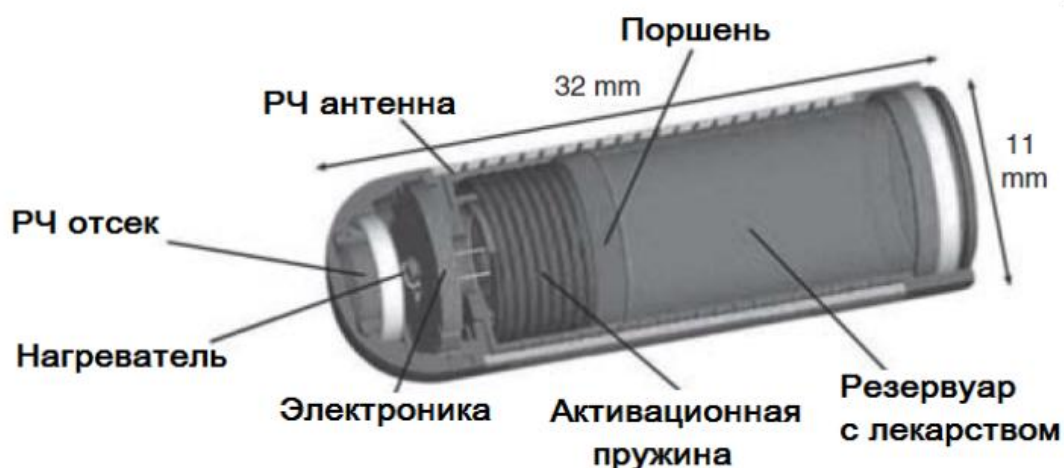


Рис. 58. Капсула Enterion (Phaeton Research), активируемая внешним электромагнитным полем [67]

Другая механическая платформа для доставки контролируемой дозы медикамента была разработана группой С. Вудса [68]. Она включает удерживающий механизм и механизм позиционирования иглы, позволяющий вводить жидкое лекарство в орган-мишень (рис. 59). Игла, через которую вводится лекарство, может поворачиваться на любой угол. Удерживающий механизм находится с противоположной от иглы стороны устройства и обеспечивает фиксацию капсулы в заданной области на стенке ЖКТ. Для удерживания микроробота на месте капсула должна увеличиться в размере, достаточном для того, чтобы противостоять перистальтике. Это достигается путем увеличения обхвата окружности микроробота за счет открытия двух плеч удерживающего механизма, которое осуществляется с помощью микромотора (рис. 60а). Микро мотор связан с конической зубчатой передачей, которая обеспечивает его поворот на 90 градусов. Коническая шестерня управляет зубчатой передачей, приводящей в движение плечи (рис. 60 а, б). Чтобы избежать защемления тканей, плечи изготавливаются округленными.

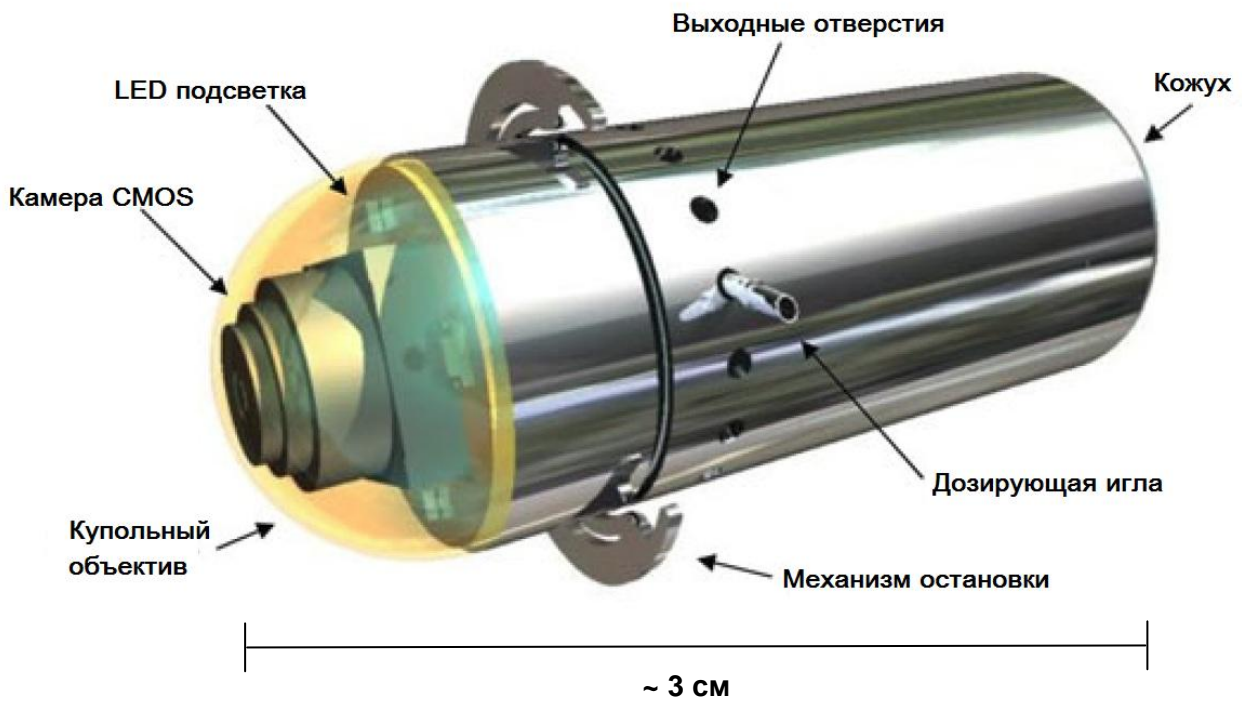


Рис. 59. Схема микроробота с механизмом остановки и фиксации в заданной области ЖКТ [68]

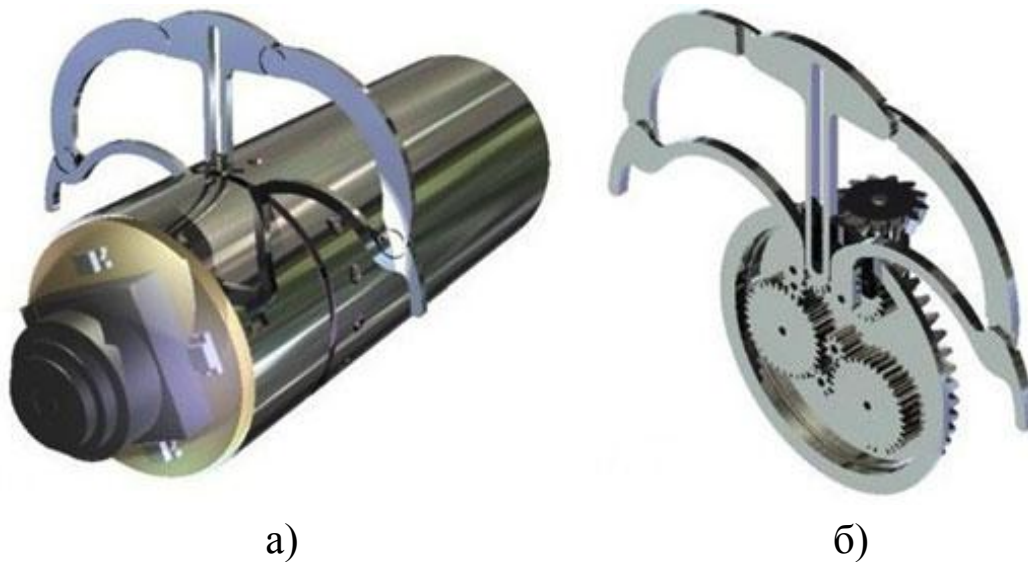


Рис. 60. Удерживающий механизм капсулы:
 а) – концепция – сопротивление движению за счет перистальтики;
 б) – вид зубчатой передачи [68]

Главной проблемой систем активной доставки лекарств является необходимость разработки компактных механизмов перемещения, не требующих существенного уменьшения размера резервуара с лекарством. Таким образом, минитюаризация электроники, сенсоров и активаторов является особенно актуальной. Механизмы активного высвобождения лекарства требуют также выбора подходящей стратегии обеспечения электропитанием. Для автономных роботов могут применяться встроенные батареи, однако для этого необходимо дополнительное пространство, что приводит к уменьшению размера резервуара с лекарством. Альтернативные решения, такие как магнитные устройства или беспроводные технологии, всё еще ограничены в возможностях передачи требуемого количества энергии. Необходимо также помнить, что используемые активные механизмы перемещения должны обеспечивать сохранность здоровых тканей [67].

5.4. Навигация капсул

С точки зрения механизмов перемещения эндоскопические капсулы подразделяются на два типа: активные и пассивные. Пассивные капсулы не требуют ни активного механизма для поддержания продвижения, ни телеметрической системы для контроля навигации. Устройства для активного перемещения, наоборот, спроектированы так, чтобы была возможность контролировать перемещение капсулы по ЖКТ.

Пассивное перемещение осуществляется за счет перистальтики. Капсулы на основе пассивного перемещения доминируют на современном рынке беспроводных эндоскопических капсул. К сожалению, перистальтическое движение является спорадическим, что приводит к недостоверной постановке диагноза в 20% исследований. Поэтому пассивное передвижение вряд ли применимо для терапевтических целей, таких как доставка лекарств.

Целью активного перемещения является обеспечение контролируемого движения, остановки и фиксирования устройства в ЖКТ. Одной из основных проблем создания активных систем передвижения является сложность размещения механизмов передвижения в капсуле при сохранении ограниченного размера таблетки, допускающего ее оральный ввод в организм [67].

Система активного перемещения капсулы должна обеспечивать:

- прикрепление капсулы к ткани;
- перемещение точек контакта для осуществления движения;
- плавучесть в случае жидких сред (например, вода/желудочный сок).

Существуют три основных метода активного передвижения:

- применение внутренних миниатюрных средств передвижения;
- внешние магнитные поля;
- подходящая (например, электрическая) стимуляция тканей ЖКТ для контроля перистальтики.

Можно также использовать комбинации этих методов.

5.4..1 Внутренние механизмы передвижения

Внутренние механизмы передвижения могут основываться на различных принципах. К примеру, существуют микророботы, перемещающиеся подобно дождевым червям (рис. 61 а) [67], в механизмах которых сокращения–удлинения пары мышц агонист–антагонист воспроизводятся с использованием активаторных пружин из СПФ, размещённых внутри силиконового стержня. Этот тип активаторов обладает низкой эффективностью (<5%) и достаточно большим временем отклика, поскольку для изменения формы элемент из СПФ нужно нагревать в течение определенного времени.

Была также исследована возможность применения механической схемы перемещения черных червей (рис. 61 б). В этом случае линейные (например, СПФ) активаторы работают в сочетании с зажимами.

Передвижение по схеме, как дождевых червей, так и черных червей, является дискретным, поскольку каждый «шаг» передвижения реализуется с использованием последовательности зажимов и удлинения (рис. 61) [67].

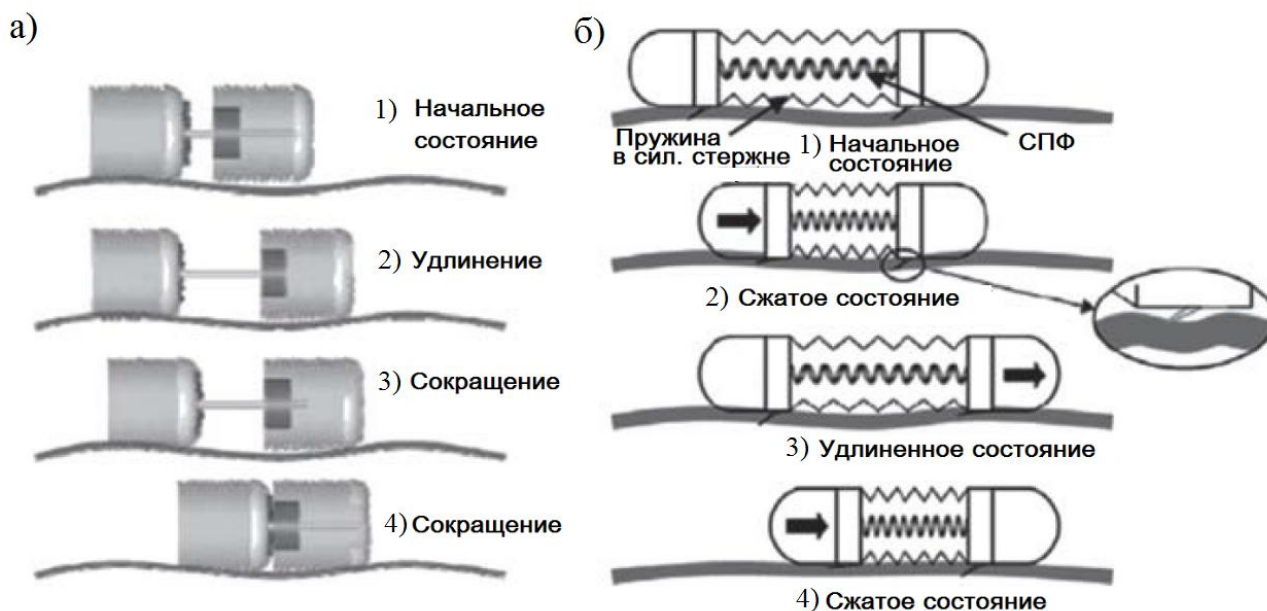


Рис. 61. Гусеничные принципы передвижения: а) – на основе пьезо-активируемого механизма перемещения, аналогичного движению дождевого червя и б) – черного червя на основе СПФ (справа) [67]

Почти непрерывное движение было достигнуто в механизмах на основе гусеничного принципа, в котором использован пьезоактиватор с длинным ходом (до 11 мм) [69], снабженный крошечным ультразвуковым генератором [70]. В этом случае пьезокерамический активатор периодически сдвигается назад и вперед под действием сигналов ультразвукового генератора, в то время как подвижный элемент следует за активатором, когда тот двигается вперед, и сохраняет свою позицию, когда пьезокерамический активатор возвращается в исходную позицию (рис. 61 а).

В других механизмах передвижения капсул, основанных на механических принципах, используются искусственные «ноги»,

как в модели по принципу движения тараканов [71] (рис. 62). Каждая «нога» обладает одной активируемой степенью свободы (в «лодыжке») и возможными пассивными степенями свободы, получаемыми за счет эластичных «коленей».



Рис. 62. Фотография прототипа капсулы с шестью ногами [71]

Механизмы перемещения, оснащенные «ногами», предоставляют возможность контролировать позицию и ориентацию капсулы, ее прикрепление и высвобождение содержимого ЛВ. Наиболее часто используемыми активаторами движения являются пружины из СПФ или электромагнитные активаторы плавникового типа.

Прикрепление капсулы к тканям организма является критической проблемой из-за сложности создания механизма, позволяющего капсуле фиксироваться на стенках ЖКТ, не вызывая их повреждения, но при этом обеспечивающего необходимую силу реакции опоры для осуществления перемещения. Несмотря на то, что механизмы с «ногами» являются технически более сложными, чем механизмы, основанные на принципе перемещения червей, они более предпочтительны в плане маневренности и безопасности, что способствует активному развитию этой технологии. С медицинской точки зрения безопасность

означает, что контакт капсулы со стенкой ЖКТ не повреждает ткань, по крайней мере, не больше, чем традиционный эндоскоп. В то время как при перемещении по принципу дождевого червя капсула скользит по ткани и не может обойти поврежденные вследствие болезни области, «ноги» гипотетически должны обладать лучшей способностью контроля навигации и, если это необходимо, могут обходить пораженные участки, не вызывая еще большего их повреждения. В дополнение, перемещение с помощью «ног» позволяет получить более высокое контактное давление вследствие меньшей площади контактируемых поверхностей.

П. Гласс и соавт. [72] представили механизм передвижения, состоящий из трех активируемых ног со «ступнями», содержащими приклеивающуюся к тканям субстанцию в микрокапиллярах. Увеличение числа ног способствует распределению контактных сил между большим числом точек, уменьшая таким образом риск повреждения ткани. Кроме того, большое число точек контакта предположительно должно улучшать эффективность продвижения вперед. В частности, успешное продвижение возможно с помощью двух наборов ног, одного в передней и одного в задней части устройства, при общем числе ног, равном 12 (рис. 63) [73].

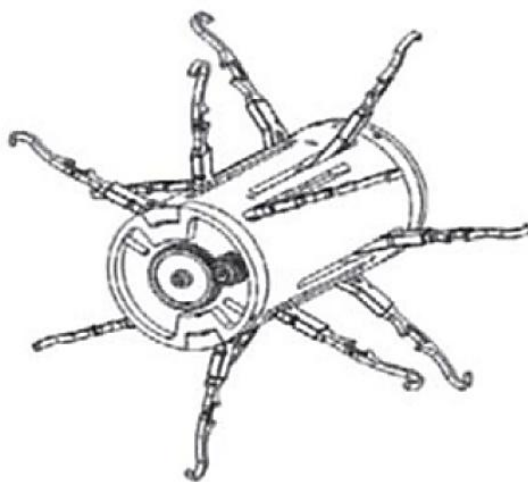


Рис. 63. 12-ножной активный механизм передвижения [73]

В капсуле, устройство которой обсуждалось выше (рис. 59, 60), используется удерживающий механизм, позволяющий противостоять перистальтике [74]. Преимущество, главным образом, заключается в возможности использования естественной перистальтики в процессе навигации, когда доставка лекарства не активна и нет необходимости в остановке капсулы.

Другой многообещающий метод передвижения носит название «пинч-движение» (pinch – щипок щепотка). Он позволяет обеспечить прикрепление капсулы к стенкам ЖКТ без их повреждения с помощью простого механизма: двух противоположно вращающихся колес, присоединенных к эластичному элементу, который позволяет регулировать расстояние между их осями (рис. 64 а) [67]. Когда два колеса вращаются в противоположных направлениях, внешние слои ткани захватываются в пространство между колесами, и механизм их заще-пляет. Продвижение капсулы происходит, когда колеса вращаются в одну сторону. На каждой капсуле смонтировано по паре одинаковых модулей, по одному на каждой стороне. Поворот на месте и наведение на заданную область осуществляется посредством вращения двух пар колес с различными угловыми скоростями (рис. 64 б). Достижимая максимальная скорость движения составляет 86 мм/с, что позволяет полностью осмотреть ЖКТ за 30–35 мин.

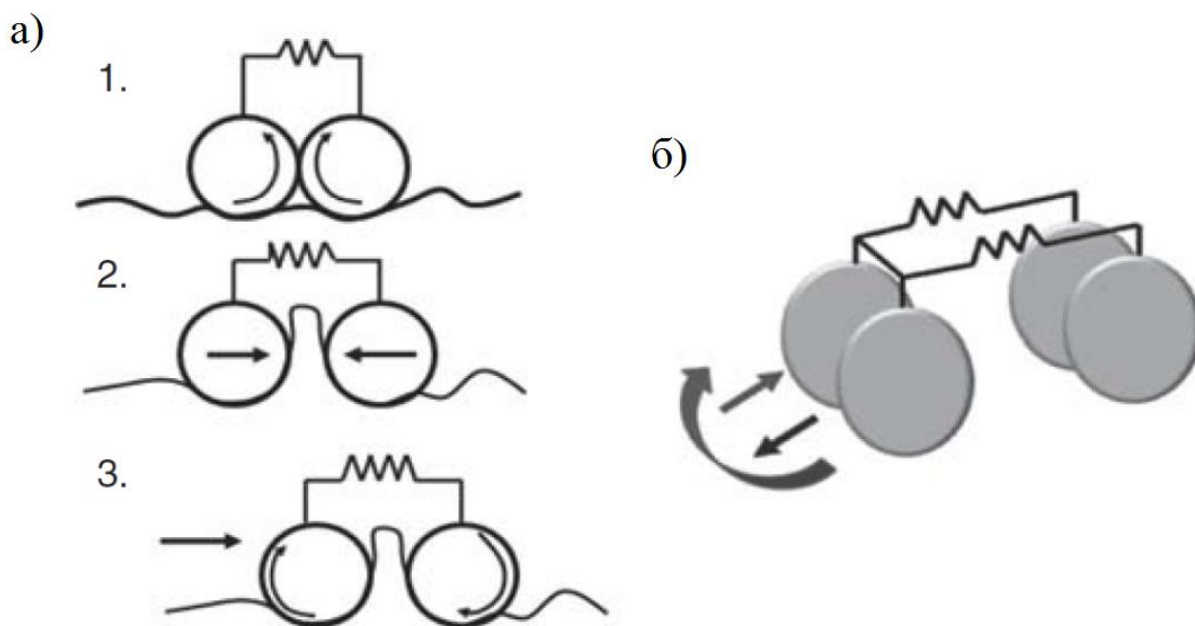


Рис. 64. Схема «пинч-движения»: а) – принцип «пинч-движения»; б) – вращение двух модулей с разными скоростями для поворота на месте и наведения на заданную область [67]

5.4.2. Внешние механизмы перемещения

Во внешних механизмах перемещения используются источники внешних магнитных полей, которые взаимодействуют с магнитными компонентами, размещенными на борту капсулы, такими как электромагниты или постоянные магниты. Данный механизм передвижения может успешно применяться, в частности, для перемещения капсулы в жидкой среде, например, в желудке, который легко наполнить водой. Для этой цели были разработаны магнитные плавающие капсулы, такие как, например, описанные в работе Е. Мориты и соавт. [75] с постоянным магнитом в плавнике (рис. 65). Микроактиватор состоит из уретановой оболочки, в которую помещается эндоскопическая капсула, плавника с магнитом и маленькой катушкой, соединенной с плавником. Плавник движется с помощью переменного

магнитного поля, создаваемого электромагнитной катушкой. Скорость перемещения достигает 50 мм/с.

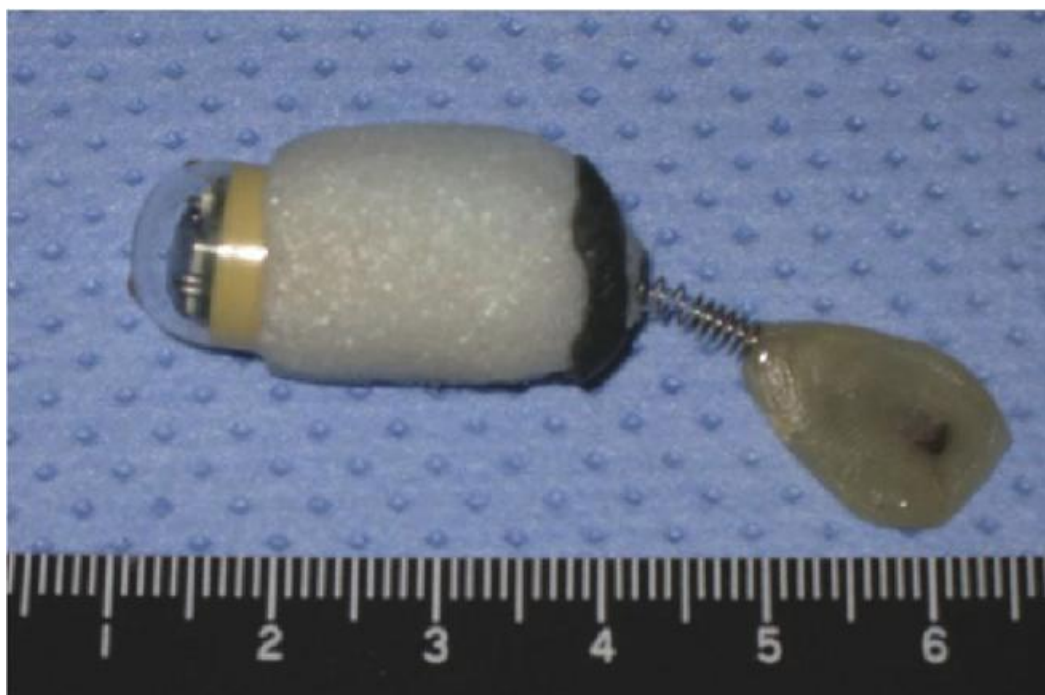


Рис. 65. Фотография плавающей эндоскопической капсулы, управляемой магнитным полем [75]. Размер 14x52 мм (14x35 мм без плавника)

Система управления такой капсулой показана на рис. 66. Устройство помещается в резервуар, наполненный водой (например, желудок), находящийся между полюсами электромагнита. Управление движением осуществляется изменением тока в электромагните. С помощью джойстика оператор может управлять скоростью и ориентацией капсулы путем изменения магнитного поля и наблюдать за пораженными участками с любого направления в реальном времени.

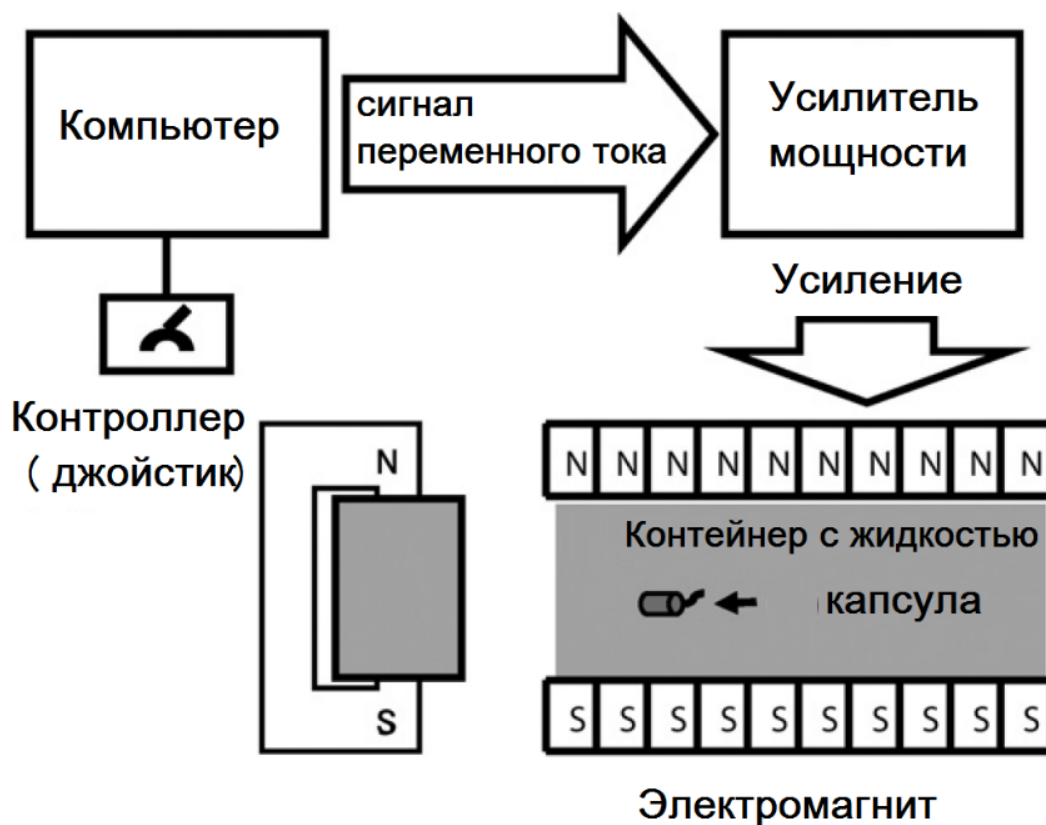


Рис. 66. Схема управления плавающей капсулой Рюококу-Осака [75]

Я. Гуо и соавт. была разработана гибридная плавающая капсула, совмещающая рыбоподобное и спиральное движение [76]. Новый тип гибридного микроробота содержит головку, способную осуществлять спиральное движение, ноги для осуществления вёсельного движения, и управляющий плавник (рис. 67). За счет переменного внешнего магнитного поля, приводящего во вращение головную спиральную часть, микроробот может преодолевать препятствия в кишечнике или кровеносных сосудах человеческого тела.

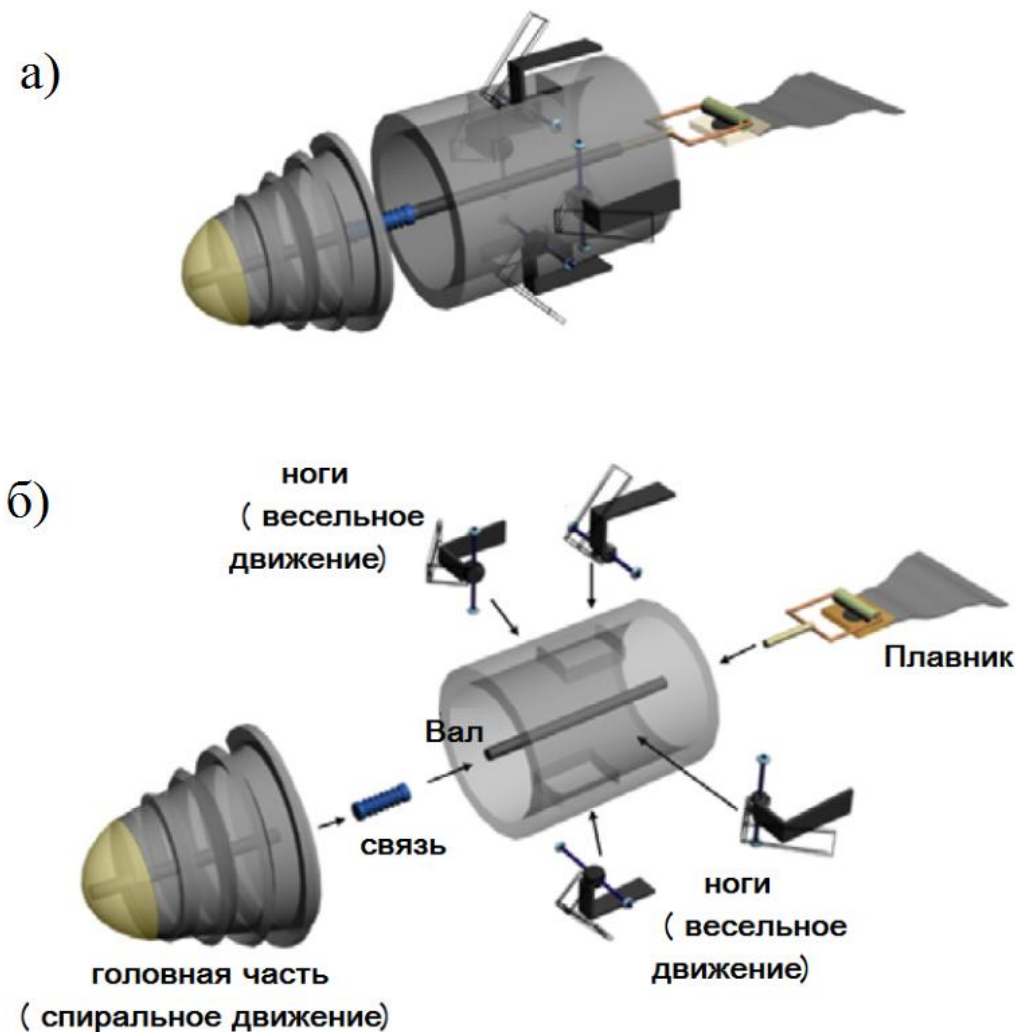


Рис. 67. Гибридный микроробот: а) – общий вид, б) – структурные элементы [76]

Головная часть микроробота состоит из четырех магнитных активаторов (рис. 68 а). Головка микроробота имеет форму сверла, вращение которого позволяет капсуле продвигаться через труднопроходимые участки. Это важно для биомедицинских приложений, поскольку может быть использовано для преодоления ряда патологических препятствий, таких как тромбы и аневризмы. Вращение микроробота в магнитном поле требует, как минимум, пары сил, создающих момент вращения. Для этого в основании, верхушке, передней и задней частях микроробота размещаются четыре постоянных магнита, создающих момент сил, обеспечивающих вращательное движение.

Фиксация и движение микроробота обеспечивается также 4 ногами, состоящими из вёсельной части, выполненной из полиэтиленового листа толщиной 0,5 мм, и магнита, который действует как управляющее устройство, позволяя контролировать движение вёсельной части внешним магнитным полем (рис. 68 б). Вёсельная часть может поворачиваться на угол от 0 до 90° в зависимости от вращающего момента, создаваемого магнитом.

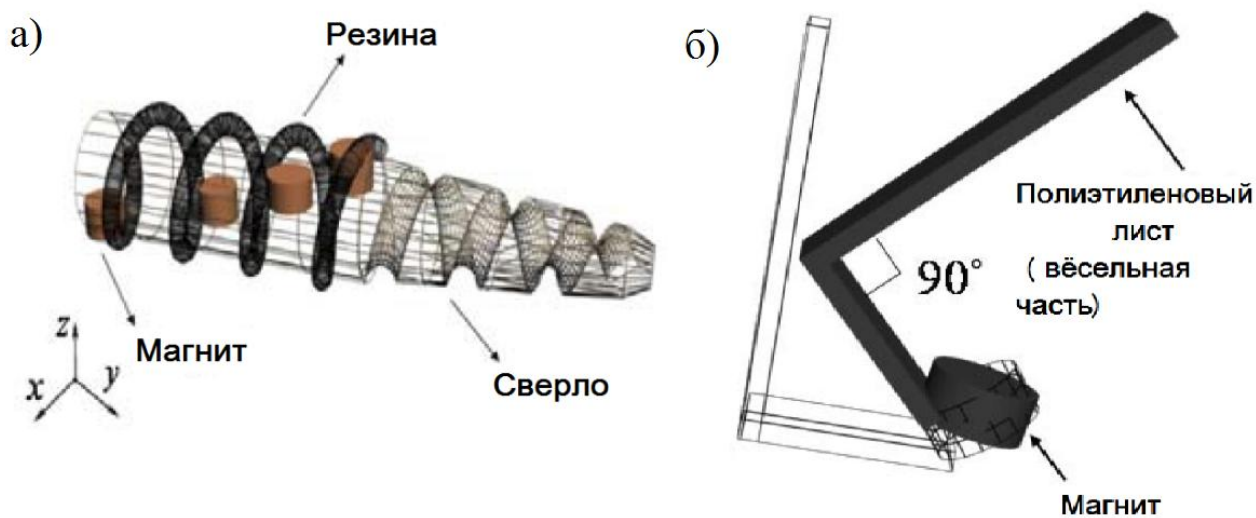


Рис. 68. Строение микроробота: а) – головная часть; б) – «нога» [76]

Еще одним примером использования внешних устройств навигации является капсула Norika (Norika Project, Япония) [77], оснащенная тремя встроенными в капсулу электромагнитами (роторные катушки), взаимодействующими с тремя внешними электромагнитами (статорные катушки). Внешние электромагниты встраиваются в чехол в виде жилета, который надевается на пациента. Для визуализации и контроля движения служит компьютерная система и соответствующий контроллер. Внутреннее устройство капсулы Norika показано на рис. 69.

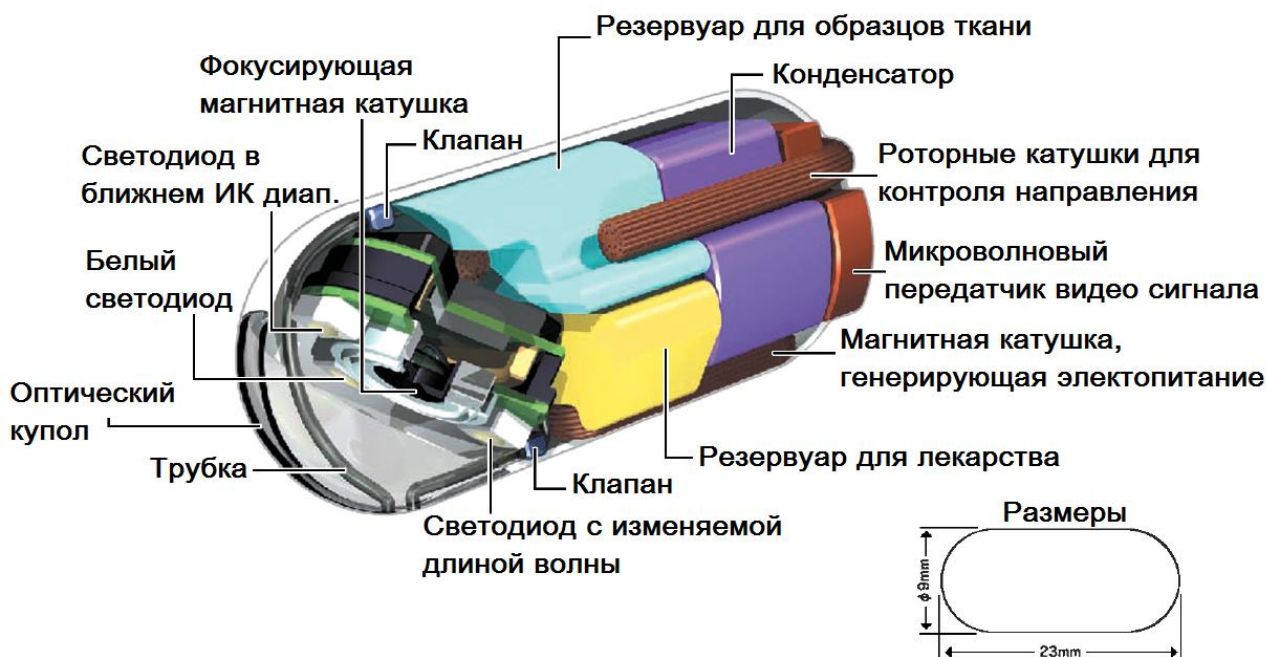


Рис. 69. Схема внутреннего устройства капсулы Norika [77]

Другим примером является капсула, разработанная Olympus Inc., оснащенная постоянным магнитом, взаимодействующим с тремя парами внешних электромагнитов [78]. Внутри капсулы имеется свободное пространство, которое может содержать медикамент. Лекарство будет высвобождаться в желаемой области тела путем активации клапана, управляемого дистанционно. Кроме того, капсула может быть оснащена небольшим резервуаром с пониженным давлением, позволяющим собирать жидкости организма для диагностики и анализа.

Внешние механизмы передвижения могут выйти из строя в случае коллапса (в данном контексте «склеивания») стенок ЖКТ. Решить эту проблему позволяет комбинация магнитного (внешнего) и «ножного» (внутреннего) способов перемещения капсулы [79]. В этом случае «внешний» механизм перемещения подразумевает использование магнитов внутри капсулы, взаимодействующих с внешним магнитным полем. Могут также использоваться магнитные оболочки. Снабженный ногами внутренний механизм активируется тогда, когда капсула «застревает» в ЖКТ (рис. 70). Для удобства размещения всех компонентов и получения эффективного прикрепления к ткани ис-

пользуются три ноги, расположенные под углом 120° друг к другу. Точка поворота трех ног располагается в середине устройства, позволяя осуществлять симметричное и обратимое движение. Такое гибридное устройство может решить проблемы, связанные с перемещением в неоднородной желудочно-кишечной среде. Кроме того, комбинация пассивного и активного видов перемещения позволяет сократить общее количество потребляемой энергии. Однако интеграция различных принципов перемещения может быть осложнена, к примеру, взаимодействием, возникающим между внутренними магнитными частями (например, электрическими двигателями) и внешними направляющими магнитами.

Схема гибридной капсулы, совмещающей магнитный (внешний) и «ножной» (внутренний) механизмы перемещения, представлена на рисунке 70. При отсутствии препятствий на пути движения капсулы используется внешний механизм перемещения с помощью постоянного магнита, управляемого внешним магнитным полем, «ноги» капсулы при этом находятся в закрытом состоянии (рис. 70 а). Когда капсула попадает в суженную область ЖКТ, внешнее магнитное поле не может преодолеть препятствие и лишь изменяет ориентацию капсулы, не продвигая ее вперед (рис. 70 б). В этом случае активируется ножной механизм (открываются «ноги»), они смещают окружающие ткани и продвигают капсулу вперед (рис. 70 в). Когда препятствие пройдено, «ноги» закрываются и вновь вступает в действие механизм движения с помощью внешнего магнита. Таким образом, комбинация внешнего и внутреннего механизмов перемещения позволяет преодолевать резкие изгибы ЖКТ и препятствия на пути движения капсулы.

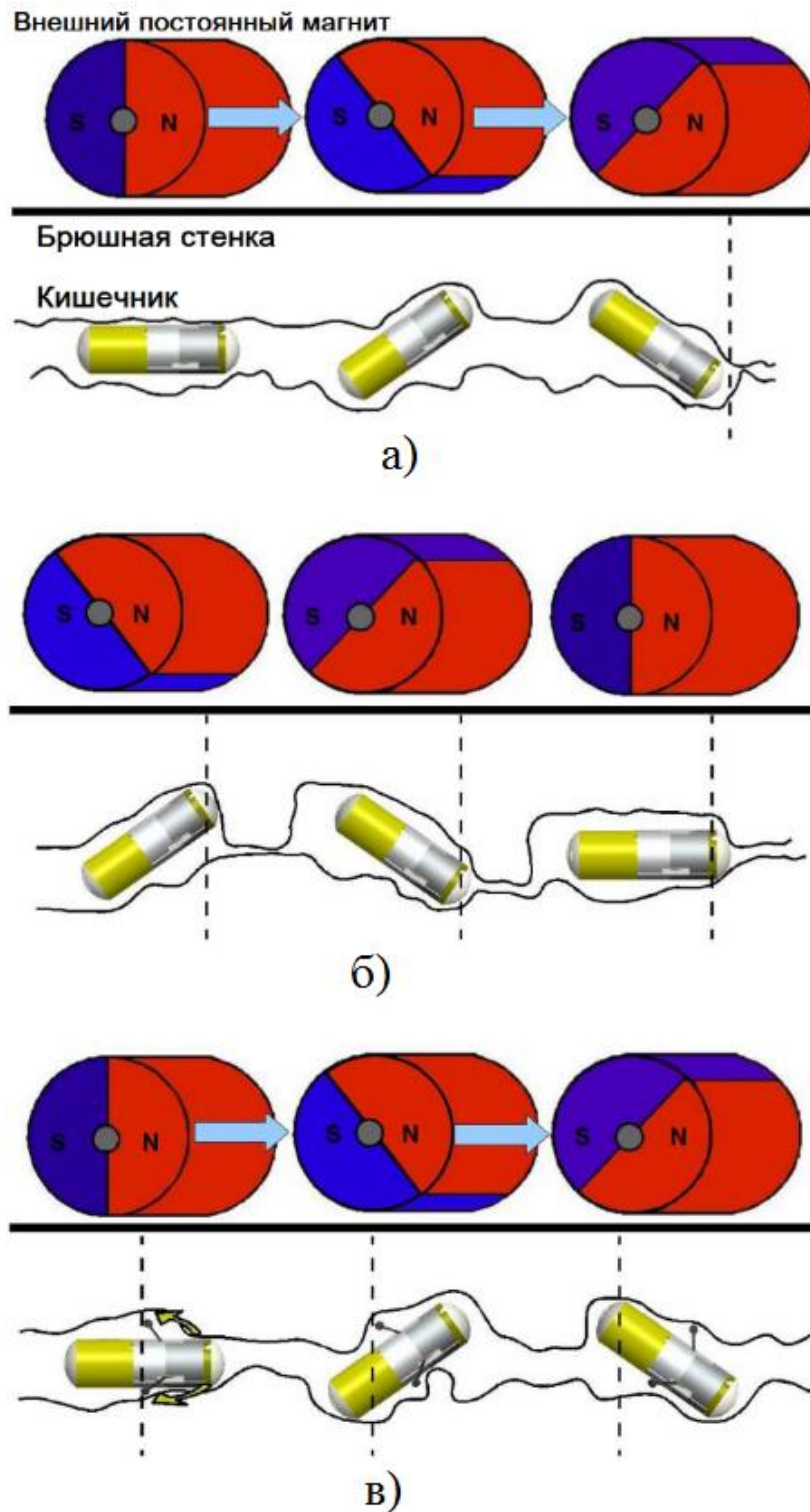


Рис. 70. Схема перемещения гибридной капсулы, совмещающей магнитный (внешний) и «ножной» (внутренний) способы перемещения [79]: а) – перемещение с помощью внешнего магнитного поля; б) – попадание капсулы в область сужения ЖКТ; в) – активация внутреннего ножного механизма

5.4.3. Стимулирование перистальтики

Третий метод перемещения капсулы подразумевает использование различных стимуляторов для управления перистальтикой. С. Ву и соавт. предложили механизм остановки эндоскопических капсул с помощью внешнего электрического воздействия (рис. 71) [80]. Для подведения электрического тока к капсуле от внешнего источника к электродам капсулы присоединяется гибкий витой провод. В отсутствие внешнего воздействия капсула движется под действием перистальтики. При достижении капсулой желаемой локализации на электроды капсулы подается электрический импульс, который вызывает сокращение окружающих стенок тонкого кишечника, вследствие чего увеличивается сила трения капсулы об окружающие стенки, что приводит к ее остановке.

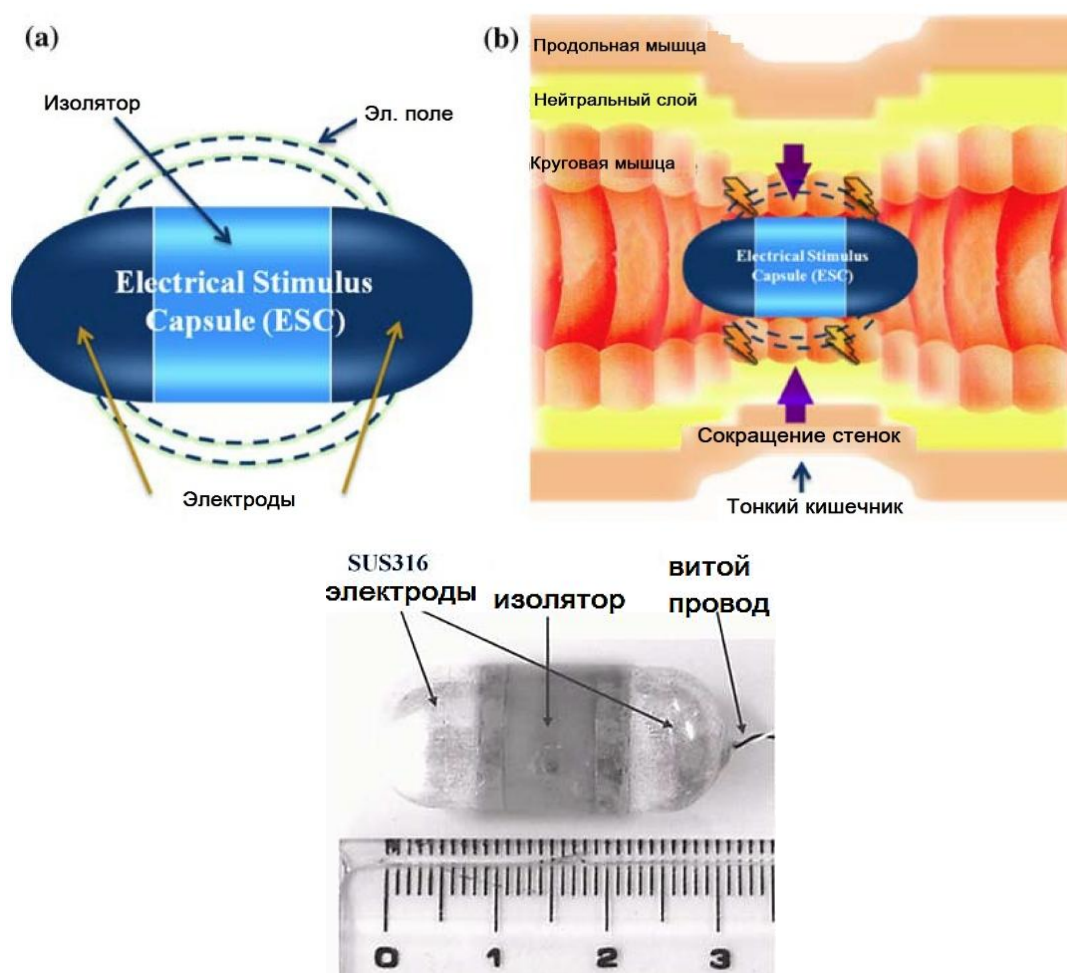


Рис. 71. Концепция капсулы с электрическим стимулятором [80]

Другим методом навигации капсул путем управления перистальтикой является активное регулирование адгезии (силы сцепления капсулы с поверхностью ЖКТ). Новый метод контроля адгезии был предложен Д. Акото и соавт. [81]. Он включает систему, способную регулировать силу адгезии на влажной подложке, такой как слизистая ЖКТ. Ребристая поверхность капсулы покрывается жидкостью, которая не смачивается желудочно-кишечной слизью, например, силиконовым маслом, и прикрепляется к влажной подложке по принципу сцепления с мокрой поверхностью. Гребенчатые электроды, расположенные под ребристой поверхностью капсулы, генерируют электрическое поле, которое изменяет смачиваемость силиконового масла, таким образом регулируя силу адгезии. Экспериментальные результаты показали, что сила адгезии может быть уменьшена путем воздействия электрического напряжения, приложенного к гребенчатым электродам. Соответственно, изменяя силу сцепления капсулы со слизистыми оболочками ЖКТ, можно регулировать скорость ее передвижения.

5.5. Телеметрия и методы определения положения капсул

Телеметрия позволяет осуществить связь с роботизированным эндоскопом, например, для отслеживания и дистанционного управления капсулой. Одним из распространенных методов определения положения капсул является РЧ телеметрия. В этом случае позиция капсулы отслеживается с помощью излучаемых ею высокочастотных электромагнитных волн [82].

Для определения положения капсулы могут также применяться ультразвуковые датчики [83]. Такая система обычно включает сетку из трех приемников, которые регистрируют акустические импульсы, испускаемые центральной станцией, помещенной в капсулу. Положение капсулы определяется построением геометрического места точек, откуда сигнал мог бы дойти до каждого приемника. Соответственно

место расположения капсулы находится как пересечение множества точек, полученных от трех источников (рис. 72).

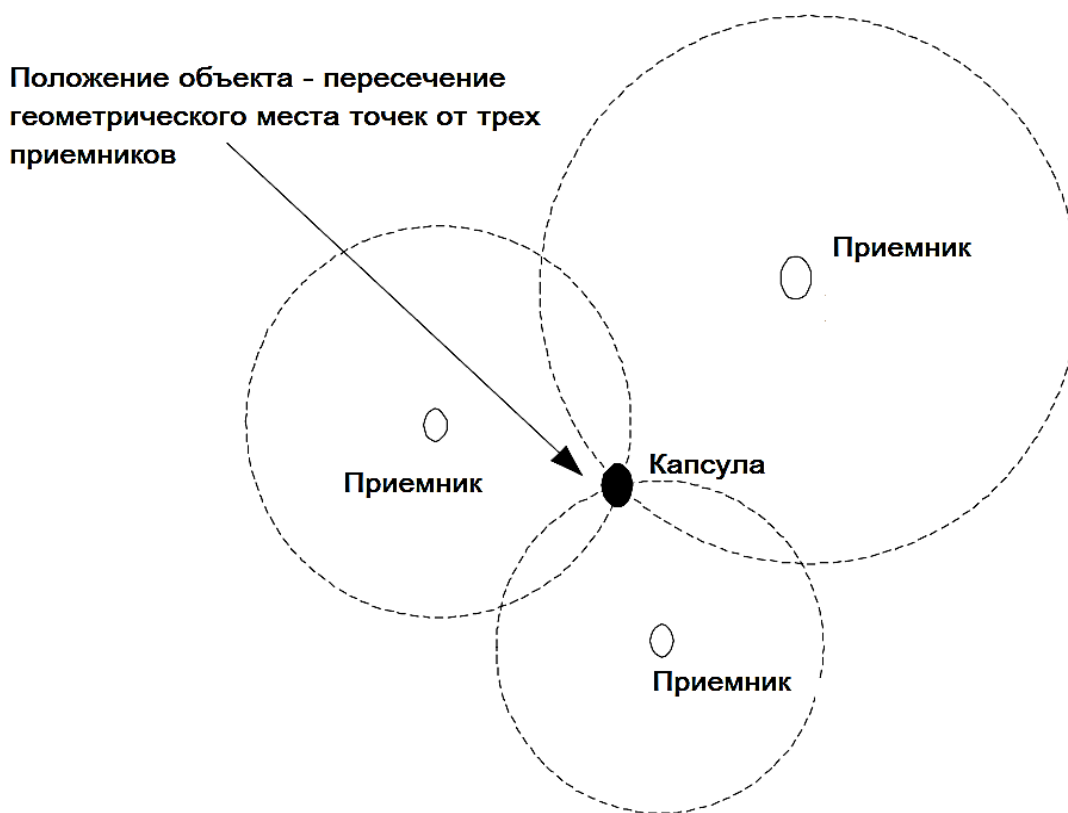


Рис. 72. Принцип определения положения капсулы, оснащенной УЗ передатчиком, с помощью трех приемников [83]

К еще одному способу определения положения капсулы в ЖКТ относится магнитное отслеживание [84, 85]. Было разработано множество методов магнитного отслеживания, однако большинство из них неприменимы, когда используется система передвижения с помощью внешних магнитов, поскольку магнитное поле капсулы будет воздействовать на измерения внешних датчиков, что затруднит определение положения капсулы. Для решения этой проблемы используются различные математические методы и алгоритмы оптимизации определения позиции капсулы и ее ориентации, позволяющие учесть взаимное влияние магнитных полей капсулы и внешнего источника [86, 87].

Другие способы дистанционного управления капсулами, включают сцинтиграфические методы, предполагающие введение в капсулу радиоактивных изотопов и определение ее положения путём регистрации испускаемого ими излучения [88]. В частности, в капсуле IntelliSite, обсужденной выше, для отслеживания положения капсулы в кишечнике используется гамма-сцинтиграфия. Введение в радиопередающий отсек капсулы двух короткоживущих гамма изотопов (индия и технеция) позволяет определять позицию капсулы с помощью гамма-камер двойного изотопного детектирования. Преимуществом такой системы является совместимость с любым механизмом активации, поскольку не возникает взаимодействие гамма-лучей с электромагнитными полями, используемыми для активации различных механизмов в капсуле.

Разработка методов определения локализации капсул ведется очень активно. Недавно были представлены новые методы, такие как визуальная одометрия [89]. Визуальная одометрия – метод оценки положения и ориентации робота или иного устройства с помощью анализа последовательности изображений, снятых установленной на нем камерой (или камерами). Однако для применения этого метода необходимо оснастить капсулу видеокамерой, что не всегда осуществимо, поэтому разработка альтернативных технологий является актуальной проблемой.

ГЛАВА 6. Дизайн новых лекарственных средств

6.1. Основные понятия драг-дизайна

К основным понятиям, используемым в драг-дизайне, относятся мишень и лекарство, определение которых для целей драг-дизайна несколько отличаются от приведенных ранее в Главе 5. В терминах драг-дизайна, мишень – это биологическая макромолекула клеток живого организма с определенными функциями, нарушение которых приводит к заболеванию, и на эту мишень необходимо воздействовать для восстановления утраченных функций. Биохимическая классификация исследуемых в настоящее время биологических мишеней и их численные соотношения представлены на рисунке 73 [90]. Наиболее часто встречающиеся мишени – это рецепторы и ферменты. В свою очередь, лекарство – это химическое соединение (как правило, низкомолекулярное), специфически взаимодействующее с мишенью и тем или иным образом модифицирующее клеточный ответ мишени.

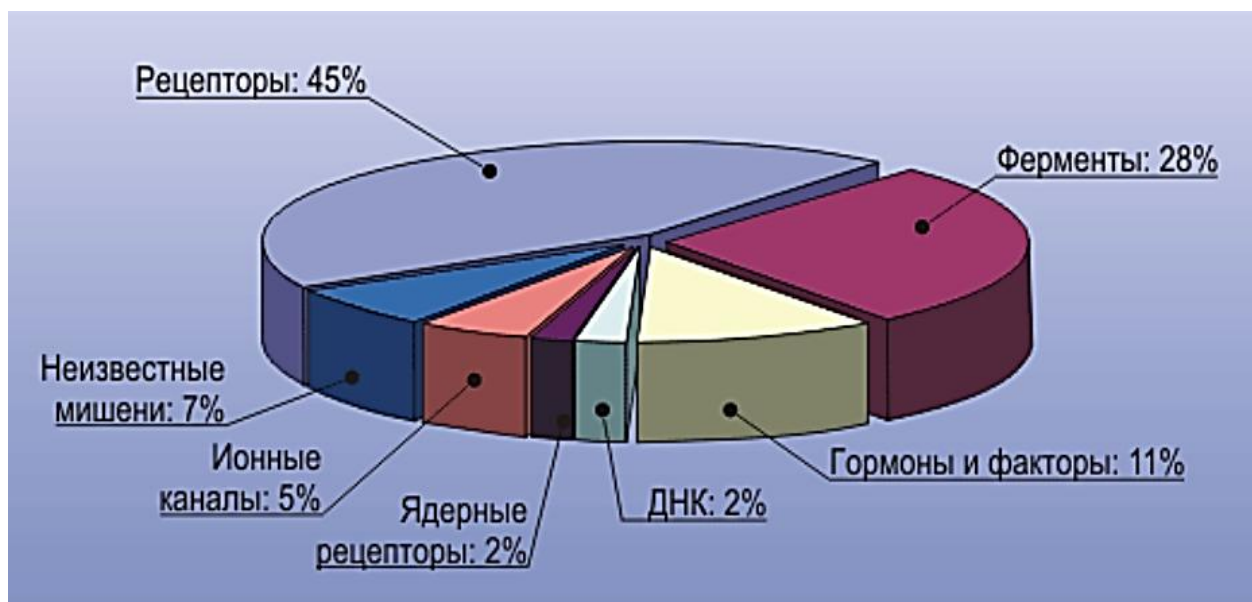


Рис. 73. Биохимическая классификация молекулярных мишеней [90]

Если в качестве мишени выступает рецептор, то лекарство становится, скорее всего, его лигандом, то есть соединением, специфически взаимодействующим с активным сайтом рецептора. В отсутствие лиганда рецептор характеризуется собственным уровнем клеточного ответа – так называемой базальной активностью.

По типу модификации клеточного ответа лиганды делят на три группы (рис. 74) [90]:

- агонисты, они увеличивают клеточный ответ;
- нейтральные агонисты, которые связываются с рецептором, но при этом не изменяют клеточный ответ в сравнении с базальным уровнем (от слова «basis» – основа);
- обратные агонисты или антагонисты, которые понижают клеточный ответ.

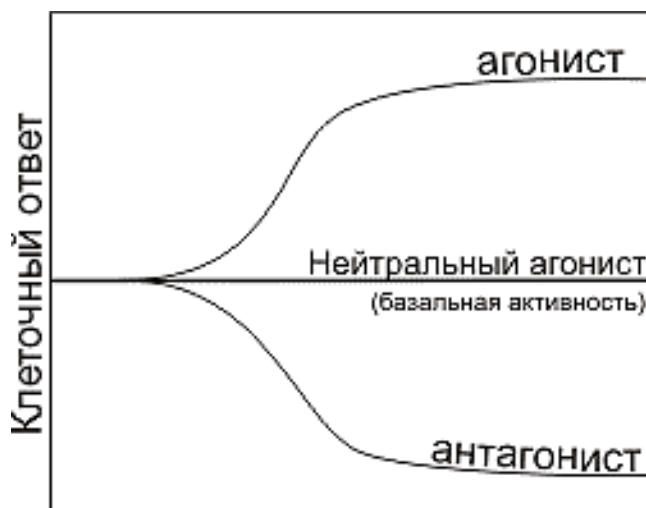


Рис. 74. Три типа влияния лигандов на клеточный ответ: увеличение ответа (положительный агонист), неизменность ответа, но конкурирование за связывание с другими лигандами (нейтральный агонист) и уменьшение ответа (антагонист) [90]

Степень взаимодействия лиганда с мишенью измеряют аффинностью (см. главу 1). Биологической же характеристикой лиганда является его активность, то есть та концентрация лиганда, при которой клеточный ответ равен половине максимального.

6.1.1. Определение и валидация мишени

Первый и самый важный этап драг-дизайна это выбор правильной мишени, воздействуя на которую можно специфическим образом регулировать одни биохимические процессы, но по возможности, не затрагивая при этом другие [90]. Однако это не всегда возможно: далеко не все заболевания являются следствием дисфункции только одного белка или гена.

С наступлением постгеномной эры, определение мишеней происходит с использованием методов сравнительной и функциональной геномики. Отправной точкой исследований являются мишени, прошедшие многоступенчатую экспериментальную валидацию (проверку), в результате которой была выявлена конкретная биологическая функция мишени применительно к фенотипическим проявлениям исследуемой болезни.

Существует несколько методов валидации мишеней. Геномные методы заключаются в подавлении синтеза мишени в тестовой системе путем получения мутантов с генным нокаутом* или использования РНК – антисмысловых последовательностей, «выключающих» тот или иной ген. Кроме того, мишени можно инактивировать с помощью моноклональных антител или воздействуя на мишень, модифицированную хромофором, лазерным излучением. Мишени также можно дезактивировать с помощью низкомолекулярных лигандов–ингибиторов. Валидация мишени может производиться и непосредственно на основе исследования ее взаимодействия с тем или иным соединением различными физическими методами.

Уровень валидации мишени повышается с числом модельных лабораторных животных, в которых модификация мишени приводит к желаемому фенотипическому проявлению. Высшим уровнем валидации является то, что модификация мишени (например, блокирование

*Нокаут гена – метод молекулярной генетики, при котором из организма удаляют или делают неработоспособными определенные гены.

или нокаут рецептора, или ингибирование фермента) приводит к клинически идентифицируемым и воспроизводимым симптомам у человека, однако такое можно наблюдать достаточно редко. Кроме того, при выборе мишени не следует забывать о таком явлении, как полиморфизм, когда ген может существовать в разных изоформах у разных популяций или рас людей, что приводит к разному терапевтическому эффекту у разных больных.

Далее начинаются непосредственные исследования, результатом которых являются многочисленные структуры химических соединений, лишь немногим из которых суждено стать лекарствами. Исследование всех возможных с химической точки зрения лигандов («chemical space» – химическое пространство) невозможно, поэтому на вероятную структуру лигандов накладывается ряд ограничений, которые существенно сужают химическое пространство. В частности, для этого накладываются условия подобия лекарству (drug-likeness), которые в простом случае можно выразить «правилом пяти Липинского», согласно которому соединение, чтобы «быть похожим» на лекарство, должно:

- иметь менее пяти атомов – доноров водородной связи;
- обладать молекулярной массой менее 500;
- иметь липофильность ($\log P$ – коэффициент распределения вещества на границе раздела вода – октанол) менее 5;
- иметь суммарно не более 10 атомов азота и кислорода (грубая оценка количества акцепторов водородной связи).

В качестве стартового набора лигандов, исследуемых на способность связываться с мишенью, обычно используют так называемые библиотеки соединений*. Задачей на этом этапе исследования является выявление соединений, способных после дальнейшей модификации, оптимизации и тестирования определить соединение-кандидат,

*Библиотеки соединений поставляются на коммерческой основе специализированными компаниями, либо содержатся в арсенале фармацевтической компании, проводящей разработку нового лекарства или заказавшей его у сторонней фирмы.

предназначенное для тестирования на животных (доклинические исследования) и на людях (клинические исследования). Этот этап осуществляется путем высокопроизводительного скрининга (*in vitro*) (англ. High Throughput Screening – HTS) или его компьютерного (*in silico*) анализа – высокопроизводительного докинга (англ. High Throughput Docking – HTD).

6.1.2. Комбинаторная химия и высокопроизводительный скрининг

Скринингом называется оптимизированная поточная процедура, в которой большое количество химических соединений (>10000) проверяется на аффинность и/или активность по отношению к специальным тестовым системам [90].

Для скрининга как для промышленной процедуры очень критична эффективность, стоимость и время, потраченное на операцию. Как правило, скрининг производится на роботизированных установках в круглосуточном, круглогодичном режиме. Принцип скрининга достаточно прост. В плашки, содержащие тестовую систему (например, иммобилизованную мишень или специальным образом модифицированные целые клетки), робот добавляет из пипетки исследуемое вещество (или смесь веществ), следуя заданной программе. Причем, на одной плашке могут находиться тысячи «лунок» с тестовой системой, и объем такой лунки может быть очень мал, так же, как и объем вносимой пробы (микро- или даже нанолитры). Далее происходит считывание данных с плашки, указывающее в какой лунке обнаружена биологическая активность, а в какой – нет. В зависимости от используемой технологии детектор может измерять сигнал разной природы: радиоактивный, флюоресцентный (если система построена с использованием флюоресцентных белков), биолюминесцентный (если используется люциферин-люциферазная система или ее аналоги), поляризованное электромагнитное излучение и другие.

Обычно, в результате скрининга количество тестируемых соединений сокращается на 3–4 порядка. Соединения, для которых в процессе скрининга выявлена активность выше заданного значения, называются прототипами. Однако следует понимать, что такие «удачи» еще очень и очень далеки от конечного продукта. Лишь те из них, которые сохраняют свою активность в модельных системах и удовлетворяют целому ряду критериев, определяют предшественников лекарств, которые исследуются в дальнейшем.

Структуры прототипов, полученные в результате скрининга, далее подвергаются разнообразным процедурам оптимизации, проводимыми в современных исследованиях, как правило, в тесном сотрудничестве между различными группами исследователей: молекулярными биологами, фармакологами, специалистами по моделированию и медицинскими химиками (рис. 75). Группа молекулярной биологии отвечает за получение мутантных мишеней, группа фармакологии – за измерение данных по активности и аффинности синтезированных лигандов на мишенях дикого типа и мутантных, группа моделирования – за построение компьютерных молекулярных моделей мишеней, предсказание их мутаций и предсказание структур лигандов, группа медицинской химии (биохимии) – за синтез лигандов. С каждым оборотом такого «фармакологического цикла» прототип приближается к предшественнику и затем к «кандидату» на лекарство, который уже тестируется непосредственно на животных и на людях. Таким образом, роль скрининга заключается в существенном сокращении (на несколько порядков) выборки прототипов (рис. 76).

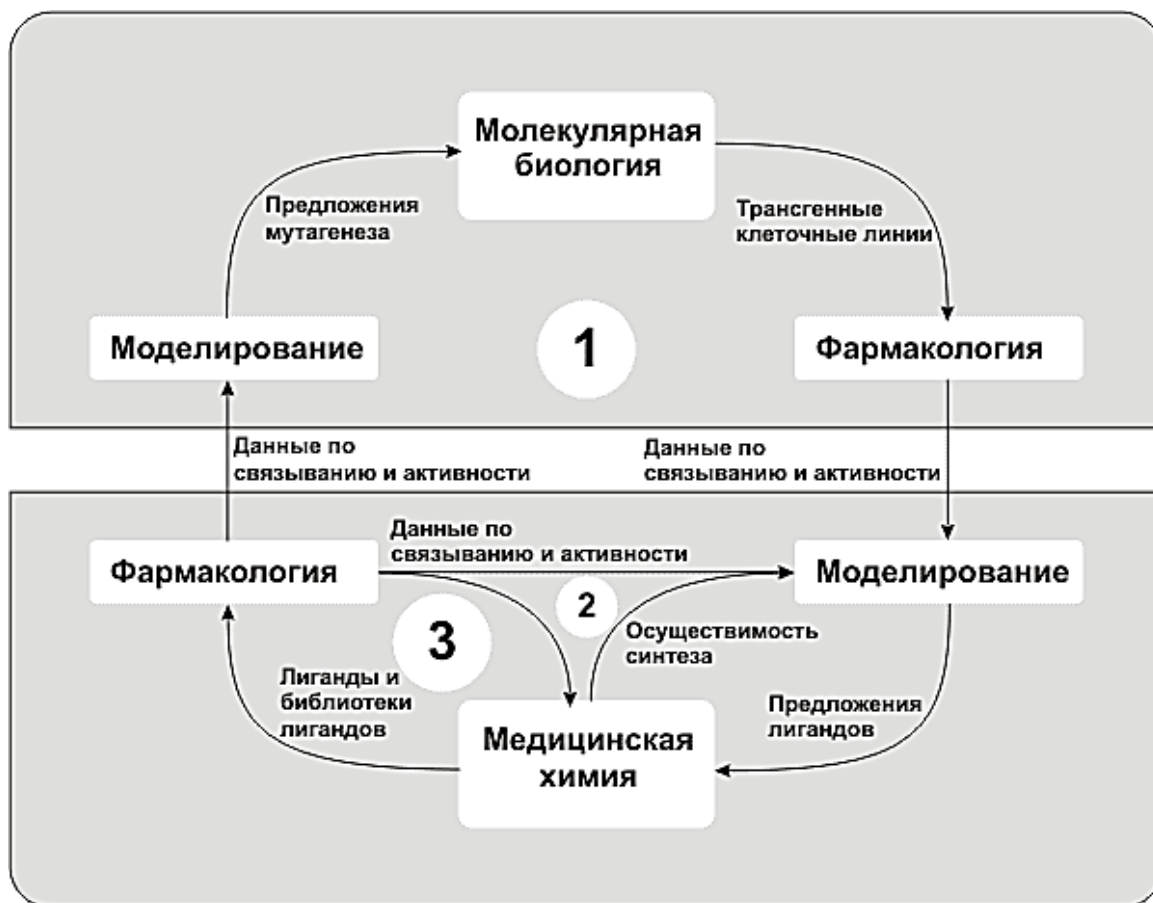


Рис. 75. Фармакологический цикл [90]

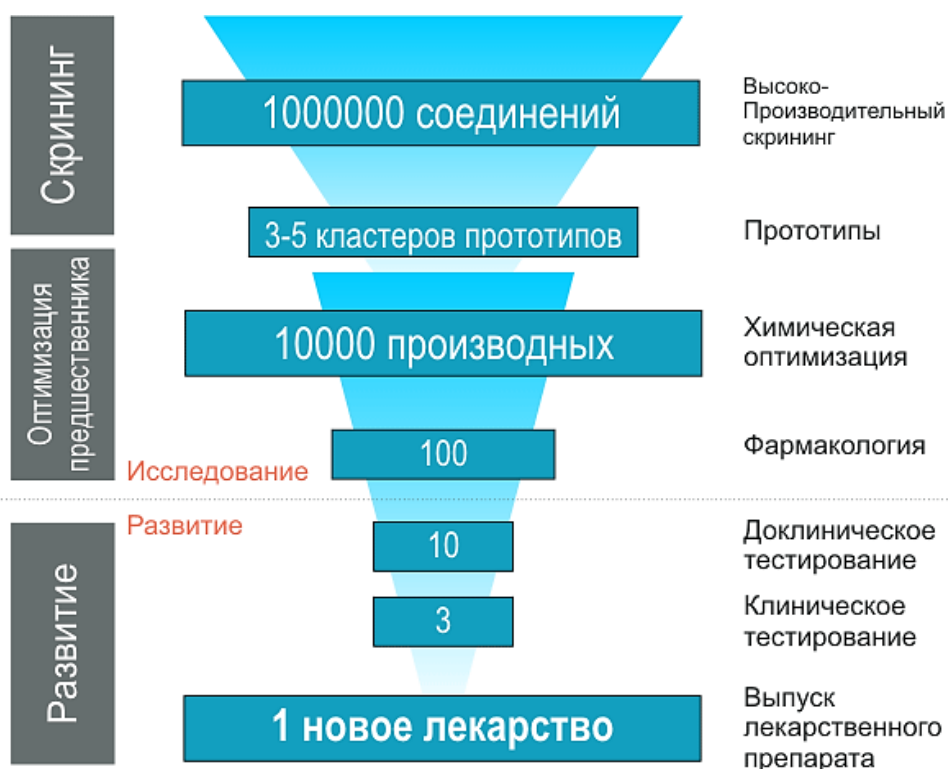


Рис. 76. Этапы разработки нового лекарственного препарата [90]

6.2. Использование вычислительной техники в технологии драг-дизайна

В настоящее время в драг-дизайне, как и в большинстве других наукоемких технологий, увеличивается роль вычислительной техники. Следует сразу оговорить, что современный уровень развития компьютерных технологий не позволяет разработать новый лекарственный препарат, используя только компьютеры. Основные преимущества, которые дают вычислительные методы в данном случае – это сокращение времени выпуска нового лекарства на рынок и снижение стоимости разработки.

Основные компьютерные методы, используемые в драг-дизайне, это [91]:

- молекулярное моделирование (ММ);
- виртуальный скрининг;
- дизайн новых лекарственных препаратов *de novo*;
- оценка свойств «подобия лекарству»;
- моделирование связывания лиганд-мишень.

Компьютерный дизайн новых лекарств позволяет увеличить эффективность поиска кандидатов в лекарство из новых соединений, поскольку в нем используется более эффективный направленный поиск, чем в традиционном методе высокопроизводительного скрининга и комбинаторной химии. Метод не только может объяснить молекулярные принципы терапевтической активности, но также и предсказать возможные производные, которые могут улучшить эффективность препарата.

Существует два основных метода компьютерного драг-дизайна, базирующихся на [91]:

- структуре мишени;
- структуре лиганда.

6.2.1. Метод, основанный на структуре мишени

В этом методе компьютерный поиск кандидатов в лекарство привлекается информации о белковой структуре мишени для расчета энергии взаимодействий для всех тестируемых соединений. В методе, основанном на структуре лиганда, для компьютерного дизайна лекарств используется информация об известных активных и неактивных молекулах и включается поиск химически схожих соединений или конструирование предсказуемых, количественных моделей взаимосвязи структура-активность. Первый подход обычно предпочтителен, когда доступны структурные данные для белковых мишеней, включающих растворимые белки, которые могут быть кристаллизованы. Основанный на структуре лиганда подход обычно применяют, когда структурной информации о мишени нет или ее недостаточно, например, для мембранных белковых мишеней.

Главной целью основанного на структуре мишени подхода является дизайн соединений, которые бы прочно связывались с мишенью, то есть с большим уменьшением свободной энергии, и селективно по отношению к мишени, не оказывая при этом существенного влияния на «не-мишени». Успешное применение этих методов позволяет получить соединение, которое затем проверяется *in vitro* и *in vivo*, для которого подтверждается сайт связывания.

Основополагающей идеей в методе, базирующемся на структуре мишени, является предположение о том, что способность молекулы взаимодействовать со специфическим белком и оказывать желаемый биологический эффект зависит от ее способности преимущественно взаимодействовать со специфическим связывающим сайтом этого белка. Молекулы, которые участвуют в этих предпочтительных взаимодействиях, будут оказывать одинаковые биологические эффекты. Таким образом, новые соединения могут быть определены путем тщательного анализа связывающего сайта белка.

Структура мишени, экспериментально определенная с помощью рентгеновской кристаллографии или ЯМР методов и депонированная

в PDB (protein database – база данных по белкам), является идеальной отправной точкой для докинга. В отсутствие экспериментальных данных для предсказания 3D структур белковых мишеней используются вычислительные методы, такие как сравнительное моделирование. Метод основан на использовании шаблона со схожей аминокислотной последовательностью в предположении, что белки со схожими последовательностями имеют схожие свойства.

Взаимодействие протеин-лиганд является предпосылкой для активности лекарства. Часто возможные сайты связывания известны для малых молекул из кристаллографических данных для мишени или близкого по структуре белка с лигандами природного происхождения или синтетическими. В их отсутствие определить сайты связывания можно посредством мутационных исследований. Однако идентификация вероятных высокоаффинных связывающих сайтов белков оказывается необходимой в случаях, если сайты связывания неизвестны или если нужно определить новые сайты связывания.

Вычислительные методики для идентификации и характеристики сайтов связывания можно разделить на три основные разновидности:

- методики, использующие геометрические алгоритмы для нахождения областей вогнутой формы в мишени;
- методики, основанные на энергетических принципах;
- методики, основанные на динамике белковых структур.

Геометрические алгоритмы определяют сайты связывания путем детектирования углублений («карманов») на поверхности белка. Эти алгоритмы часто используют сетки для описания молекулярной поверхности или 3D структуры белка. Граница кармана определяется посредством перекатывания «сферического образца» по поверхностной сетке. Карман считается найденным, когда определен период не взаимодействия («провал»), то есть когда часть сферического образца между точками контакта не «касается» других атомов белковой мишени.

В методах, основанных на энергетических принципах, рассчитывают энергии Ван-дер-Ваальсовых, электростатических, гидрофобных

взаимодействий, а также водородного связывания и взаимодействий с растворителями, которые могут привести к энергетически выгодному механизму связывания.

При конформационной подвижности биомолекулы использование одной жесткой структуры для предсказания вероятных сайтов связывания иногда недостаточно. Для учета вероятной структурной динамики мишени часто рассматривается множество конформаций. Для получения ансамбля конформаций мишени из одной стартовой могут использоваться классические методы симуляции молекулярной динамики (МД). Метод МД использует принципы классической механики для расчета траектории конформаций белков как функции времени. Траектория рассчитывается для специфического числа атомов с маленькими временными интервалами, обычно 1–10 фс ($1 \text{ фс} = 10^{-15} \text{ с}$) [92].

Прототипы лекарства можно получать, не только выбирая из уже подготовленной базы данных соединений. Если известна пространственная структура мишени (или хотя бы трехмерная модель фармакофора*), возможно построение лигандов *de novo*, используя общие принципы расчета межмолекулярного взаимодействия. При этом подходе в сайт связывания лиганда помещается один или несколько базовых молекулярных фрагментов, и лиганд последовательно «наращивается» в сайте связывания, подвергаясь оптимизации пространственной геометрии на каждом шаге алгоритма. Полученные структуры, так же, как и при докинге, оцениваются с помощью эмпирических оценочных функций.

* Фармакофор – набор пространственных и электронных признаков, необходимых для обеспечения оптимальных супрамолекулярных взаимодействий с определенной биологической мишенью, которые могут вызывать (или блокировать) её биологический ответ.

6.2.2. Методы компьютерного дизайна лекарств, основанные на структуре лиганда

В случае если ничего не известно о трехмерной структуре мишени (что случается достаточно часто), прибегают к методикам создания новых соединений исходя из информации о структуре уже известных лигандов и данных по их активности [91, 93]. Подход основывается на общепринятой в химии и биологии парадигме, что структура определяет свойства. Основываясь на анализе корреляций между структурой известных соединений и их свойствами, можно предсказать структуру нового соединения, обладающего желаемыми свойствами (или же, наоборот, для известной структуры предсказать свойства). Причем, этот подход используется как при модификации известных структур с целью улучшения их свойств, так и при поиске новых соединений путем скрининга соответствующих библиотек. Конечной целью является модификация этих соединений таким образом, чтобы физико-химические свойства, наиболее важные для желаемых взаимодействий, сохранялись, в то время как лишняя информация, не относящаяся к желаемым взаимодействиям, отбрасывалась.

Существуют два фундаментальных подхода, используемых в методах, основанных на структуре лиганда:

- выборка соединений на основании химической схожести с известными активными соединениями;
- конструирование модели, которая может предсказать биологическую активность на основании химической структуры.

Различие в данных подходах состоит в том, что в последнем подходе оценивают свойства химической структуры, основываясь на данных о ее влиянии на желаемую биологическую активность, в то время как в первом подходе эта оценка не производится.

Методы определения «схожести» молекул (или методы «отпечатков пальцев») состоят в дискретном учете определенных отличительных свойств молекулы, называемых дескрипторами и сравнении

получившегося «отпечатка» с «отпечатком» эталонной молекулы с известными свойствами. К таким дескрипторам относятся, например, число доноров водородной связи, число бензольных колец, наличие определенного заместителя в определенном положении и т.д. Степень похожести выражается коэффициентом Танимото, изменяющимся в диапазоне $0 \div 1$. Высокая похожесть предполагает близость свойств сопоставляемых молекул, и наоборот.

Методы, в которых за основу принимают известные координаты атомов лиганда, называются методами количественной связи между структурой и активностью (QSAR – Quantitative Structure-Activity Relationship). К одному из наиболее широко используемых среди них относится метод сравнительного анализа молекулярных полей. Заключается он в представлении лиганда в виде набора молекулярных полей, отдельно характеризующих его стерические, электростатические, донорно-акцепторные и другие свойства. Полученный набор молекулярных полей и дает возможность определять в каком месте у лиганда должен быть объемный заместитель, а в каком – маленький, в каком полярный, а в каком – нет, в каком имеется донор водородной связи, а в каком – акцептор, и т.д. Такая модель может быть использована в задачах виртуального скрининга библиотек соединений, выступая в данном случае аналогом модели фармакофора. Самым главным недостатком этого метода является то, что он обладает высокой предсказательной силой лишь на родственных классах соединений. При попытке предсказать активность соединения другой химической природы, чем лиганды, использованные для построения модели, результат может оказаться недостаточно достоверным.

Очевидно, что достоверность моделирования, как и эффективность всего процесса конструирования нового лекарства, можно существенно повысить, если учитывать данные не только о структуре лигандов, но и о структуре белка – мишени. Методы, учитывающие эти данные, носят общее название «драг-дизайн на основе структурной информации» (SBDD – Structure-Based Drug Design).

В заключение отметим, что, несмотря на очевидную перспективность, компьютерные методы имеют ряд ограничений, которые необходимо иметь в виду, чтобы правильно представлять себе их возможности. Прежде всего, хотя методология *in silico* подразумевает проведение полноценных компьютерных экспериментов, необходима экспериментальная проверка полученных результатов. То есть, подразумевается тесное сотрудничество научных групп, проводящих компьютерный эксперимент, с другими экспериментальными группами. Кроме того, компьютерные методы пока не могут учесть всего разнообразия влияния лекарственного препарата на организм человека, поэтому они не позволяют сколько-нибудь существенно сократить время клинического тестирования, занимающее основную долю в разработке нового препарата.

Таким образом, на сегодняшний день роль компьютерных методов в технологии драг-дизайна сводится к ускорению и удешевлению исследований, предшествующих клиническим испытаниям. В перспективе, новые наукоемкие приложения смогут поднять драг-дизайн на более высокий уровень, и работа в этом направлении ведется активно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоусов Ю.Б. Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарственных средств / Ю.Б. Белоусов, К.Г. Гуревич – М.: Литтерра, 2005. – 288 с.
2. Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты: руководство / Под ред. В.Г. Кукеса. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 432 с.
3. Овчинникова Л.К. Основные механизмы всасывания лекарственных средств. Биодоступность лекарств / Л.К. Овчинникова // Новая аптека: эффективное управление. – 2008. – № 5. – С. 44–46.
4. Фармакокинетика. Часть II: всасывание, распределение, выведение. – URL:
<http://www.remedium.ru/doctor/therapeutics/detail.php?ID=16886/>
(дата обращения: 19.07.2018).
5. Marieb E.N. Human Anatomy & Physiology / E.N. Marieb, K. Hoehn – 9th Edition, Boston: Pearson, 2012. – 1264 p.
6. Натрий-калиевая аденозинтрифосфатаза. – URL:
https://ru.wikipedia.org/wiki/Натрий-калиевая_аденозинтрифосфатаза/ (дата обращения 27.06.2020).
7. Crepalde M.A. Modeling and analysis of cell membrane systems with probabilistic model checking / M.A. Crepalde, A.C. Faria-Campos, A.C. Faria-Campos, S. Campos // BMC Genomics. – 2011. – V.12, № 4. – P. 14.
8. Pinocytosis. – URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Pinocytosis/> (дата обращения: 27.06.2020).
9. Хлусов И.А. Принципы создания и функционирования систем доставки лекарственных средств: учебное пособие / И.А. Хлусов, В.С. Чучалин, Т.Г. Хоружая. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2008. – 81 с.

10. *Jain K.K.* Drug delivery systems / K.K. Jain. – Humana Press, 2008. – 255 p.
11. *Колесник А.И.* Разработка и экспериментальное обоснование использования интравитреального имплантата для доставки лекарственных веществ к структурам заднего сегмента глаза: дисс. ... канд. мед. наук / А.И. Колесник. – Москва, 2016. – 240 с.
12. *Григорьева М.В.* Полимерные системы с контролируемым высвобождением биологически активных соединений / М.В. Григорьева // Биотехнология. – 2011. – Т. 4, № 2. – С. 9–23.
13. *Штильман М.И.* Полимеры в биологически активных системах / М.И. Штильман // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 5. – С. 48–53.
14. *Kopeček J.* Soluble biomedical polymers / J. Kopeček // Polim. Med. – 1977. – V. 7. – P. 191–221.
15. *Kopeček J.* Soluble polymers in medicine / In: D.F. Williams, editor. Systemic Aspects of Biocompatibility. – Raton, Florida Boca: CRC Press; 1981. – V. II. – P. 159–180.
16. *Jatzkewitz H.* Peptamin (glycyl-L-leucyl-mescaline) bound to blood plasma expander (polyvinylpyrrolidone) as a new depot form of a biologically active primary amine (mescaline) / H. Jatzkewitz // Z. Naturforsch. – 1955. – V. 10b. – P. 27–31.
17. *Givetal N.I.* Experimental studies on penicillin polymer derivatives (in Russian) / N.I. Givetal, S.N. Ushakov, E.F. Panarin, G.O. Popova / Antibiotiki. – 1965. – V. 10. – P. 701–706.
18. *Shumikina K.I.* Experimental study of polymer salts of penicillins (in Russian) / K.I. Shumikina, E.F. Panarin, S.N. Ushakov // Antibiotiki. – 1966. – V. 11. – P. 767–770.
19. *Panarin E.F.* Synthesis of polymer salts and amidopenicillines (in Russian) / E.F. Panarin, S.N. Ushakov // Khim. Pharm. Zhur. – 1968. – V. 2. – P. 28–31.

20. *Mathé G.* Effect sur la leucémie L1210 de la souris d'une combinaison par diazotation d'a méthoptérine et de γ globulines de hamsters porteurs de cette leucémie par hétérogreffe / G. Mathé, T.B. Loc, J. Bernard // *Compte-rendus del'Académie des Sciences.* – 1958. – V. 3. – P. 1626–1628.
21. *De Duve C.* Lysosomotropic agents / C. De Duve, T. De Barys, B. Poole, A. Trouet, P. Tulkens, F. van Hoof // *Biochem. Pharmacol.* – 1974. – V. 23. – P. 2495–2531.
22. *Ringsdorf H.* Structure and properties of pharmacologically active polymers / H. Ringsdorf // *J. Polym. Sci., Polym. Symp.* – 1975. –V. 1. – P. 135–153.
23. *Kopecek J.* Polymer-drug conjugates: Origins, progress to date and future directions / J. Kopecek // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2013. – V. 65, № 1. – P. 49–59.
24. *Pan H.* Release of prostaglandin E 1 from N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymer conjugates by bone cells / H. Pan, J. Liu, Y. Dong, M. Sima, P. Kopečková, M.L. Brandi, J. Kopeček // *Macromol. Biosci.* – 2008. –V. 8. – P. 599–605.
25. *Pan H.Z.* Biodistribution and pharmacokinetic studies of bone-targeting N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymer-alendronate conjugates / H.Z. Pan, M. Sima, P. Kopečková, K. Wu, S.Q. Gao, J. Liu, D. Wang, S.C. Miller, J. Kopeček // *Mol. Pharmaceutics.* – 2008. – V. 5. – P. 548–558.
26. *Segal E.* Targeting angiogenesis-dependent calcified neoplasms using combined polymer therapeutics / E. Segal, H. Pan, P. Ofek, T. Ugadawa, P. Kopečková, J. Kopeček, R. Satchi-Fainaro // *PLoS ONE.* – 2009. – V. 4. – № 4. – P. e5233.
27. *Segal E.* Enhanced antitumor activity and safety profile of targeted nano-scaled HPMA copolymer – alendronate – TNP470 conjugate in the treatment of bone malignancies / E. Segal, H. Pan, L. Benayoun, P. Kopečková, Y. Shaked, J. Kopeček, R. Satchi-Fainaro // *Biomaterials.* – 2011. – V. 32. – P. 4450–4463.

28. *Li J.* Injectable drug delivery systems based on supramolecular hydrogels formed by poly(ethylene oxide) and α cyclodextrin / J. Li, X. Ni, K.W. Leong // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2003. – V. 65A. – P. 196–202.
29. *Quaglia F.* Modulation of drug release from hydrogels by using cyclodextrins: the case of nicardipine/ β -cyclodextrin systems in crosslinked polyethyleneglycol / F. Quaglia, G. Varricchio, A. Miro et al. // *J. Control. Release.* – 2001. – V. 71. – P. 329–337.
30. *Liu Y.Y.* Synthesis, properties and controlled release behaviors of hydrogels networks using cyclodextrin as pendant groups / Y.Y. Liu, X.D. Fan // *Biomaterials.* – 2005. – V. 26. – P. 6367–6374.
31. *Кедик С.А.* Полимеры для систем доставки лекарственных веществ пролонгированного действия (обзор). Полимеры и сополимеры молочной и гликолевой кислот / С.А. Кедик, Е.С. Жаворонок, И.П. Седишев, А.В. Панов, В.В. Суслов, Е.А. Петрова, М.Д. Сапельников, Д.О. Шаталов, Д.В. Ерёмин // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* – 2013. – № 2(3). – С. 18–35.
32. *Ali S.A.M.* Molecular biointeractions of biomedical polymers with extracellular exudate and inflammatory cells and their effects on the biocompatibility, in vivo / S.A.M. Ali, P.J. Doherty, D.F. Williams. // *Biomaterials.* – 1994. – V. 15, № 10. – P. 779–785.
33. *Кедик С.А.* Полимеры для систем доставки лекарственных веществ пролонгированного действия (обзор). Перспективные синтетические и природные полимеры / С.А. Кедик, Е.С. Жаворонок, И.П. Седишев, А.В. Панов, В.В. Суслов, Е.А. Петрова, М.Д. Сапельников, Д.О. Шаталов, Д.В. Ерёмин // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* – 2013. – №4. – С. 22–35.
34. *Sinha V.R.* Bioabsorbable polymers for implantable therapeutic systems / V.R. Sinha, L. Khosla // *Drug Development and Industrial Pharmacy.* – 1998. – V. 24. – № 12. – P. 1129–1138.

35. *Gunatillake P.A.* Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering / P.A. Gunatillake, R. Adhikari // *European Cells and Materials*. – 2003. – V. 5. – P. 1–16.
36. *Varde N.K.* Microspheres for controlled release drug delivery / N.K. Varde, D.W. Pack // *Expert Opin. Biol. Ther.* – 2004. – V. 4. – № 1. – P. 35–51.
37. *Albu M.G.* Collagen-Based Drug Delivery Systems for Tissue Engineering / N.G. Albu. I. Titorencu, M.V. Ghica // In: R. Pignatello, editor. – *Biomaterials Applications for Nanomedicine*. Rijeka, Croatia: InTech, 2011. – P. 333–360.
38. Эмульсионная полимеризация.– URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Emulsion_polymerization (дата обращения: 03.07.2020).
39. *Owens J.L.* Compressed antisolvent precipitation and photopolymerisation to form highly cross-linked polymer particles / J.L. Owens, K.S. Anseth, T.W. Randolph // *J. Macromolecules* – 2002. – V. 35. – P. 4289–4296.
40. *Kamiyama, M.* Micron-sized polymeric microsphere by suspension polymerization / M. Kamiyama, K. Koyama, H. Matsuda, Y. Sano // *J. Appl. Polymer. Sci.* – 1993. – V. 50. – P. 107–113.
41. *Jayachandran K.N.* Preparation of linear and crosslinked polymer microspheres by dispersion polymerization / K.N. Jayachandran, P.R. Chatterji // *J. Macromol. Sci. Polymer Rev.* – 2001. – V. 41. – P. 79–94.
42. *Guang H.M.* Preparation of uniform poly(lactide) microspheres by employing the Shirasu porous glass (SPG) emulsification technique / H.M. Guang, N. Masatoshi, O. Shinzo // *J. Colloids Surfact A: Physicochem. Eng. Aspects* – 1999. – V. 153. – P. 383–394.
43. *Berkland C.* Fabrication of PLG microspheres with precisely controlled and monodisperse sizedistributions / C. Berkland, C. Berkland, K.K. Kim, D.W. Pack // *J. Control. Rel.* – 2001. – V. 73. – P. 59–74.

44. *Yang Y.Y.* Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method / Y.Y. Yang, T.S. Chung, N. NG // *Biomaterials*. – 2001. – V. 22. – P. 231–241.
45. *Jain R.A.* Controlled release of drugs from injectable in situ formed biodegradable PLGA microspheres: effect of various formulation variables / R.A. Jain, C.T. Rhodes, A.M. Railkar, A.W. Malick, N.H. Shah // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* – 2000. – V. 50. – P. 257–262.
46. *Mishra N.* Targeted drug delivery: a review / N. Mishra, P. Pant, A. Porwal, J. Jaiswal, A.M. Samad, S. Tiwari // *Am. J. PharmTech Res.* – 2016. – V. 6. – № 1. – P. 1–24.
47. *Matsumura Y.* A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent SMANCS / Y. Matsumura, H. Maeda // *Cancer Res.* – 1986. – V. 46. – P. 6387–6392.
48. *Fang J.* The EPR effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect / J. Fang, H. Nakamura, H. Maeda // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2011. – V. 63. – P. 136–151.
49. *Prabhakar U.* Challenges and key considerations of the enhanced permeability and retention (EPR) effect for nanomedicine drug delivery in oncology / U. Prabhakar, H. Maeda, R.K. Jain, E.M. Sevick-Muraca, W. Zamboni, O.C. Farokhzad, S.T. Barry, A. Gabizon, P. Grodzinski, and D.C. Blakey // *Cancer Res.* – 2013. – V. 73. – № 8. – P. 2412–2417.
50. Liposome (biology). – URL: <https://www.britannica.com/science/liposome/> (дата обращения: 4.07.2020).
51. *Swami A.* Chapter 2. Nanoparticles for targeted and temporally controlled drug delivery / A. Swami, J. Shi, S. Gadde, Al.R.

- Votruba, N. Kolishetti, O.C. Farokhzad. – P. 9–29. // In Svenson, S. Multifunctional Nanoparticles for Drug Delivery Applications / S. Svenson, R.K. Prud'homme Editors. – London: Springer, 2012. – 371 p.
52. Семчиков Ю.Д. Дендримеры – новый класс полимеров / Ю.Д. Семчиков // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 12. – С. 45–51.
53. Dykes G.M. Dendrimers. A review of their appeal and applications / G.M. Dykes // J. Chem Technol, Biotechnol. – 2001. – V. 76. – P. 903–918.
54. Коршунов А.Ю. Дендримеры – древовидные полимеры, свойства и применение / Молодежный научно-технический вестник. Эл. Журнал – URL: <https://docplayer.ru/28059906-Dendrimery-drevovidnye-polimery-svoystva-i-primenenie.html> (дата обращения: 05.07.2020).
55. Zong H. Bifunctional PAMAM dendrimer conjugates of folic acid and methotrexate with defined ratio / H. Zong et al. // Biomacromolecules. – 2012. – V. 13. – № 4. – P. 982–991.
56. Misra R.D.K. Quantum dots for tumor-targeted drug delivery and cell imaging. / R.D.K. Misra // Nanomedicine. – 2008. – V. 3. – P. 271–274.
57. Thassu D. Nanoparticulate Drug Delivery System / D. Thassu, M. Deleers, and Y. Pathak. – New York: Informa Healthcare Hardcover, 2007. – 352 p.
58. Lifeng Q. Emerging application of quantum dots for drug delivery and therapy / Q. Lifeng, X. Gao // Expert Opin. Drug Deliv. – 2008. – V. 5. – № 3. – P. 263–267.
59. Hoare T.R. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges / T.R. Hoare, D.S. Kohane // ScienceDirect. – 2008. – V. 49, № 8. – P. 1993–2007.
60. Farokhzad O.C. Platelet mimicry / O.C. Farokhzad // Nature (News and Views). – 2015. – V. 526 – P. 47–48.

61. *Wuyang Y.* A smart capsule with GI-tract-location-specific payload release / Y. Wuyang, R. Rahim, O. Manuel, P. Rodolfo, Z. Babak // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering.* – 2015. – V. 62. – P. 2289–2295.
62. *Francis, G.E.* Drug targeting / G.E. Francis, C. Delgado – Humana Press, 2000. – 299 p.
63. Лекция № 12. Антитела. – URL: http://www.plam.ru/biolog/mikrobiologija_konspekt_lekcii/p12.php (дата обращения: 23.07.2018).
64. Antibody Structure. – URL: <http://absoluteantibody.com/antibody-resources/antibody-overview/antibody-structure/> (дата обращения: 23.07.2018).
65. Структура антител (иммуноглобулинов). – URL: https://studopedia.ru/4_137572_struktura-antitel-immunoglobulinov.html (дата обращения: 23.07.2018).
66. *Кольман Я.* Наглядная биохимия: Пер. с нем / Я. Кольман, К.Г. Рём. – М.: Мир, 2000. – 469 с.
67. *Goffredo R.* Swallowable smart pills for local drug delivery: present status and future perspectives / R. Goffredo, D. Accoto, E. Gudliemelli // *Expert Rev. Med. Devices.* – 2015. – V. 12. – № 5. – P. 585–599.
68. *Woods S.P.* Wireless capsule endoscope for targeted drug delivery: mechanics and design considerations / S.P. Woods, T.G. Constandinou // *IEEE Trans Biomed Eng.* – 2013. – V. 60. – № 4. – P. 945–953.
69. *Kim B.* An earthworm-like locomotive mechanism for capsule endoscope / B. Kim, S. Park, C.Y. Jee, et al. // *IROS.* – 2005. – P. 2997–3002.
70. *Park H.* A crawling based locomotive mechanism using a tiny ultrasonic actuator / H. Park, B. Kim, J.O. Park et al. // *Materials 39th International Symposium on Robotics (Seoul, Korea, 15–17 October 2008).* – 2008. – P. 85–90.

71. *Gorini S.* A novel SMA-based actuator for a legged endoscopic capsule / S. Gorini, M. Quirini, A. Menciassi, et al. // In Biomedical robotics and biomechatronics, BioRob 2006. The First IEEE/RAS-EMBS International Conference (Pisa, Italy 20–22 February 2006). – 2006. – P. 433–449.
72. *Glass P.* A legged anchoring mechanism for capsule / P. Glass, E. Cheung, A.M. Sitti // IEEE Transact Biomed Engineer. – 2008. – V. 55. – № 1. – P. 2759–2767.
73. *Quirini M.* Design of a pill-sized 12 legged endoscopic capsule robot / M. Quirini, R.J. III Webster, A. Menciassi et al. // IEEE International Conference on Robotics and Automation (Roma, Italy 10–14 April 2007). – 2007. – P. 1856–1862.
74. *Woods S.P.* Towards a micropositioning system for targeted drug delivery in wireless capsule endoscopy / S.P. Woods, T.G. Constandinou // 33rd Annual International Conference of the IEEE EMBS (Boston, 30 August – 3 September 2011).
75. *Morita E.* In vivo trial of a driving system for a self-propelling capsule endoscope using a magnetic field / E. Morita, N. Ohtsuka, Y. Shindo et al. // Gastrointest Endosc. – 2010. – V. 72. – P. 4836–4840.
76. *Shuxiang G.* Development of a novel wireless microrobot in-pipe with hybrid motion / G. Shuxiang, X. Wei, J. Guo et al. // Mechatronics and Automation (ICRA), 2014 IEEE International Conference (Tianjin.31 May – 7 June 2014).
77. *Uehara A.* Capsule endoscope Norika system / A. Uehara, K. Hoshima // Minim Invasive Therapy Allied Technol. – 2003. – V. 1. – P. 227–234.
78. *Kusuda Y.* A further step beyond wireless capsule endoscopy / Y. Kusuda // Sens Rev. – 2005. – V. 25. – P. 259–260.
79. *Simi M.* Design, fabrication and testing of a capsule with hybrid locomotion for gastrointestinal tract exploration / M. Simi, P.

- Valdastri, C. Quaglia et al. // IEEE/ASME Transact Mechatr. – 2010. – V. 15. – № 2. – P. 170–180.
80. *Woo S.H.* Stopping mechanism for capsule endoscope using electrical stimulus / S.H.Woo, T.W.Kim, J.H. Cho // Med Biol Eng Comput. – 2010. – V. 48, № 1. – P. 97–102.
81. *Accoto D.* Device and method for controlled adhesion upon moist substrate / D. Accoto, M.T. Francomano, C. Esposito. – Patent. WO111076 A1. – 2013.
82. *Razzacki S.Z.* Integrated microsystems for controlled drug delivery / S.Z. Razzacki, P.K. Thwar, M. Yang et al. // Adv Drug Deliv Rev. – 2008. – V. 56. – № 2. – P. 186–198.
83. *Arshak K.* Capsule tracking in the GI tract: a novel microcontroller based solution / K. Arshak, F. Adepoju // Proceeding IEEE Sensors Applications Symp.; Huston, TX. – 2006.
84. *Hu C.* Efficient magnetic localization and orientation technique for capsule endoscopy / C.Hu, M.Q. Meng, M. Mandal // IEEE International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS 2005). – 2005.
85. *Dietzel C.T.* Magnetic active agent release system (MAARS): evaluation of a new way for a reproducible, externally controlled drug release into the small intestine / C.T. Dietzel, H. Richert, S. Abert et al. // J. Control. Rel. – 2012. – V. 161. – № 3. – P. 722–727.
86. *Popek K.M.* Localization Method for a Magnetic Capsule Endoscope Propelled by a Rotating Magnetic Dipole Field / K.M. Popek, A.W. Mahoney, J.J. Abbott // IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA); 6–10 May 2013; Karlsruhe, Germany. – 2013.
87. *Salerno M.* A discrete-time localization method for capsule endoscopy based on on-board magnetic sensing / M. Salerno, G. Ciuti, G. Lucarini et al. // Mes. Sci. Technol. – 2012. – V. 23. – № 1. – P. 15701.

88. *Than T.D.* Concept and simulation study of a novel localization method for robotic endoscopic capsules using multiple positron emission markers / T.D. Than, G. Alici, S. Harvey et al. // *Med. Phys.* – 2014. – V. 41. – № 7. – P. 072501.
89. *Koulaouzidis A.* Wireless capsule endoscope localization based on visual odometry / A. Koulaouzidis, D. Iakovidis, E. Spyrou // *Gut J.* – 2014. – V. 63. – № 1. – P. A44.
90. *Чугунов А.* Драг-дизайн: как в современном мире создаются новые лекарства. – URL: <https://biomolecula.ru/articles/drag-dizain-kak-v-sovremennom-mire-sozdaiutsia-novye-lekarstva> (дата обращения: 24.07.2018).
91. *Sliwoski G.* Computational Methods in Drug Discovery / G. Sliwoski, S. Kothiwale, J. Meiler, and E.W. Lowe Jr // *Pharmacol Rev.* – 2014. – V. 66. – P. 334–395.
92. *Van Gunsteren W.F.* Computer Simulation of Molecular Dynamics: Methodology, Applications, and Perspectives in Chemistry / W.F. van Gunsteren, H.J.C. Berendsen // *Angewandte Chemie.* – 1990. – V. 29. – № 9. – P. 992–1023.
93. *Lengauer T.* Novel technologies for virtual screening / T. Lengauer, C. Lemmen, M. Rarey, M. Zimmermann // *Drug Discov. Today.* – 2004. – V. 9. – P. 27–34.

Учебное издание

Галиуллина Лейсан Фаритовна

**ПРИНЦИПЫ И СИСТЕМЫ
АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Учебное пособие

Подписано в печать 16.03.2021.

Бумага офсетная. Печать цифровая.

Формат 60x84 1/16. Гарнитура «Times New Roman».

Усл. печ. л. 10,0. Уч.-изд. л. 5,5. Тираж 100 экз. Заказ 169/2

Отпечатано с готового оригинал-макета
в типографии Издательства Казанского университета

420008, г. Казань, ул. профессора Нужи́на, 1/37

тел. (843) 233-73-59, 233-73-28



Галиуллина Лейсан Фаритовна

(1983–2018 гг.), к.ф.-м.н., доцент кафедры медицинской физики Института физики КФУ (2015–2018 гг.). Принимала активное участие в организации образовательной деятельности кафедры медицинской физики, в выполнении научных исследований в рамках федеральных проектов, в том числе в качестве руководителя, и совместных с зарубежными партнерами работах. Лауреат Казанской молодежной премии им. Е.К. Завойского «За работы в области физики и ее применениях» 2015 года. Автор и соавтор более 40 научных работ, выполненных на кафедрах медицинской физики и квантовой электроники и радиоспектроскопии Института физики КФУ, а также в лаборатории радиоспектроскопии ИОФХ им. А.Е. Арбузова.

ISBN 978-5-00130-457-9



9 785001 304579 >