

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗВРЕДНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРО- И НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ (МЕТ)АКРИЛОВЫХ СОПОЛИМЕРОВ КАК СИСТЕМ НАПРАВЛЕННОЙ ПЕРОРАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ОПРЕДЕЛЕННЫЕ ОТДЕЛЫ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

¹Семина И.И., ¹Кабанова Т.А., ¹Байчурина А.З., ¹Ситенков А.Ю., ¹Протасова А.А.,
¹Насибуллин Ш.Ф., ¹Мустафин Р.И.

¹ ГБОУ ВПО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Россия, e-mail: seminai@mail.ru

С целью разработки потенциальных носителей для пероральных систем доставки на основе интерполиэлектролитного комплекса (ИПЭК) на основе противоположно заряженных марок (мет)акриловых сополимеров торговой марки Eudragit[®], проведено изучение безвредности применения микро- и наноразмерных частиц ИПЭК с использованием (мет)акрилатов на лабораторных мышах. Результаты экспериментов свидетельствуют об отсутствии общего токсического действия и влияние на центральную нервную систему опытных образцов микро- и нанокомпозиций при пероральном введении экспериментальным животным в максимальной дозе 3000 мг/кг. Проведенные исследования показали перспективность указанного направления, показывающего, что микро- и наноразмерные формы ИПЭК с участием сополимеров Eudragit[®] могут быть безопасными для использования в качестве носителей лекарственных веществ для их направленной доставки в определенные отделы желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: интерполиэлектролитные комплексы, сополимеры эудрагит, направленная доставка, безвредность применения, микро- и наноразмерные частицы, общее действие, поведенческие нарушения.

HARMLESS USE STUDY OF MICRO- AND NANOSIZED PARTICLES BASED ON (METH)ACRYLIC COPOLYMERS AS TARGETING ORAL DRUG DELIVERY SYSTEMS IN SITE-SPECIFIC GASTRO-INTESTINAL REGIONS

¹Semina I.I., ¹Kabanova T.V., ¹Baychurina A.Z., ¹Sitenkov A. Y., ¹Protasova A.A.,
¹Nasibullin S.F., ¹Mustafin R.I.

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia, e-mail: seminai@yandex.ru

The study of harmless use of micro- and nanosized particles of interpolyelectrolyte complex (IPEC) using oppositely charged brands of (meth)acrylic copolymers Eudragit[®] has been carried out on mice in order to develop potential carriers for oral delivery systems. The results of experiment has shown no toxic effects and action on central nervous system of micro- and nanosized compositions when administered orally to the experimental animals in the maximal dose of 3000 mg/kg. Recent studies demonstrate perspective direction indicating that micro- and nanosized forms of IPEC using copolymers Eudragit[®] may be safe for use as carriers of drug substances for their targeted delivery to specific regions of the gastrointestinal tract.

Key words: interpolyelectrolyte complexes, copolymers Eudragit, targeted delivery, harmless use, microsized particles, nanosized particles, general action, behavioral disturbances.

Актуальной задачей современной фармацевтической науки остается создание лекарственных форм с улучшенными биофармацевтическими характеристиками.

Одним из наиболее рациональных путей повышения терапевтической эффективности лекарственных препаратов является применение различных носителей лекарственных веществ (ЛВ) с регулируемой скоростью их высвобождения в определенном месте организма.

В настоящее время все возрастающий интерес вызывают наносистемы, так как они способны транспортировать ЛВ внутрь клеток, содержащееся в них ЛВ защищено от инактивации и его действие пролонгируется.

Новым направлением в разработке лекарственных средств является использование наночастиц для повышения биодоступности ЛВ при его пероральном введении, и в этом плане несомненный интерес представляют наноконструкции на основе интерполиэлектролитных комплексов (ИПЭК), образованных сополимерами (мет)акриловой кислоты (эудрагиты различных марок), которые широко применяются в фармацевтической промышленности, хорошо переносятся и являются биосовместимыми [2, 6, 7, 8, 10]. Разработка наноконструкций на основе образованных поли(мет)акрилатами ИПЭК как систем доставки ЛВ в настоящее время только начинает развиваться.

Ранее нами было показано, что пероральные лекарственные формы на основе ИПЭК с использованием эудрагитов способны обеспечивать контролируемую по времени доставку ЛВ в заданные отделы желудочно-кишечного тракта [1, 9]. Кроме того, было установлено, что ИПЭК, образованные сополимерами (мет)этакриловой кислоты эудрагит (Eudragit®) и карбопол (Carbopol®) при пероральном введении экспериментальным животным не оказывают токсического действия [4].

С целью оптимизации лекарственных форм на основе ИПЭК и повышения биодоступности ЛВ нами были разработаны композиции с использованием микро- и наночастиц и ИПЭК, обладающие улучшенными фармако-технологическими и биофармацевтическими характеристиками, что существенно повышает эффективность высвобождения ЛВ [5].

Учитывая, что вещества в форме наночастиц могут обладать иным токсическим действием, чем в обычном физико-химическом состоянии, целью настоящего исследования явилось изучение безвредности применения микро- и наноразмерных частиц ИПЭК с участием сополимеров эудрагит как систем направленной доставки лекарственных веществ в определенные отделы желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы исследования

Фармакологические исследования по определению «острой» токсичности и токсикологических характеристик полученных лабораторных образцов микро- и наноконструкций проведены на 162 белых беспородных мышах-самцах массой 17-25 г. согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [3].

До начала экспериментов все животные содержались в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной диете (ГОСТ Р

50258-92) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997), а также правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96). Все исследования были согласованы с комитетом по этической экспертизе.

Было изучено 5 образцов, состоящих из 2-х групп, различающихся диаметром (CD) частиц:

1-я группа состояла из 3-х микроразмерных образцов:

Образец №1: эудрагит EPO + альгинат натрия (EPO/АЛ); $CD = 61.19 \pm 13.26$ мкм;

Образец №2: эудрагит EPO + альгинат натрия (EPO/АЛ), покрытых дополнительной субболочкой эудрагит L100- 55; $CD = 136.33 \pm 38.96$ мкм;);

Образец №3: эудрагит EPO + эудрагит S100 (EPO/S100); $CD \geq 10$ мкм;

2 группа состояла из 2-х наноразмерных образцов:

Образец №4: эудрагит EPO + эудрагит S100 (EPO/S100); $CD \leq 300$ нм

Образец №5: эудрагит EPO + эудрагит S100 (EPO/S100); $300 \text{ нм} \geq CD \leq 10$ мкм;

При определении «острой» токсичности опытные образцы композиций вводили в дозах 1000, 2000 и 3000 мг/кг в желудок в крахмальной слизи с помощью специального зонда. Каждую дозу вводили 6 мышам. Одновременно контрольным группам из 6 мышей вводили крахмальную слизь в том же объеме. Проводили анализ картины общего действия (наличие угнетающего или возбуждающего действия на центральную нервную систему (ЦНС), отличительные особенности в поведении в сравнении с животными контрольной группы).

Оценку влияния композиций на ЦНС проводили по изменению ориентировочно-исследовательской реакции и двигательной активности животных. Для изучения двигательной и исследовательской (ориентировочной) реакции животных использовали метод «открытое поле» на установке «Открытое поле» (НПК Открытая Наука, Москва, Россия). В «открытом поле» в течение 3 мин регистрировали количество пересечений линий и вертикальных стоек, что отражает неспецифический уровень возбуждения; количество заглядываний в отверстия как показатель исследовательской активности животного. Образцы вводили ежедневно перорально в дозе 2000 мг/кг в течение 14 дней.

Результаты экспериментов обрабатывали статистически с вычислением t- критерия Стьюдента.

Результаты исследования

Введение всех исследуемых доз образцов микро- и наноконпозиций не приводило к гибели животных, не было отмечено признаков интоксикации, поведение мышей опытных

контрольных групп не различалось. Введение образцов в дозе 3000 мг/кг (максимальная доза, которую возможно было ввести), не приводило к гибели мышей, поэтому ЛД₅₀ образцов определить не удалось.

Результаты экспериментов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Характер общего действия при введении образцов микро- и нанокмпозиций мышам.

№ пп	Наименование Образца	Характер общего действия при введении мышам дозы 1000 мг/кг	Характер общего действия при введении мышам дозы 2000 мг/кг	Характер общего действия при введении мышам дозы 3000 мг/кг
1	ЕРО/АЛ; CD = 61.19±13.26 мкм	Все мыши живы. Характер общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы
2	ЕРО/АЛ+ L100- 55 CD = 136.33±38.96 мкм	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы
3.	ЕРО/S100; CD ≥ 10 мкм	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы
4.	ЕРО/S100 CD ≤ 300 нм	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы
5.	ЕРО/S100); 300 нм ≥ CD ≤ 10 мкм	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы	Все мыши живы. Характер картины общего действия не отличается от такового у контрольной группы

Как видно из таблицы, картина общего действия на лабораторных животных всех исследованных образцов была одинаковой: животные опытных и контрольных групп практически не различались, что свидетельствует о том, что исследованные образцы являются практически нетоксичными.

Поскольку одним из основных показателей интоксикации являются изменения со стороны ЦНС, нами была проведена оценка поведения животных в тесте «открытое поле». Этот метод входит в перечень рекомендуемых при токсикологической оценке лекарственных препаратов, в том числе, содержащих наночастицы [3]. Лабораторные образцы нано- и микрокомпозиций вводили белым мышам в дозе 2000 мг/кг внутрь в течение 14 дней и регистрировали показатели исследовательской и двигательной активности. Результаты исследований представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

Исследовательская активность белых мышей в «открытом» поле после введения лабораторных образцов в течение 14 дней.

№ №пп	Состав комплексов и размер	Доза мг/кг	Исследовательская активность (число заглядываний в отверстия за 3 мин) M+m	P
1	ЕРО/АЛ; CD = 61.19±13.26 мкм	2000 мг/кг	31 + 9	>0,05
2	ЕРО/АЛ+ L100- 55 CD = 136.33±38.96 мкм	2000 мг/кг	52 +19	>0,05
3	ЕРО/S100; CD ≥ 10 мкм	2000 мг/кг	39 +10	>0,05
4	ЕРО/S100 CD ≤ 300 нм	2000 мг/кг	56 + 14	>0,05
5	ЕРО/S100); 300 нм ≥ CD ≤ 10 мкм	2000 мг/кг	37 + 18	>0,05>0,05
6	Контроль		48 +11	

Таблица 3

Двигательная активность белых мышей в «открытом» поле после введения лабораторных образцов в течение 14 дней.

№ пп/№пп	Состав комплексов и размер	Дозы мг/кг	Двигательная активность (число пересеченных линий за 3 мин) M+m	P
1	ЕРО/АЛ; CD = 61.19±13.26 мкм	2000 мг/кг	51 + 11	>0,05
2	ЕРО/АЛ+ L100- 55 CD = 136.33±38.96 мкм	2000 мг/кг	59+23	>0,05
3	ЕРО/S100; CD ≥ 10 мкм	2000 мг/кг	38 + 16	>0,05

4	ЕРО/S100 CD ≤ 300 нм	2000 мг/кг	46 +17	>0,05
5	ЕРО/S100); 300 нм ≥ CD ≤ 10 мкм	2000 мг/кг	48 + 16	>0,05
6	Контроль		58 +18	

Как видно из таблиц, ни один из исследуемых образцов при ежедневном введении в течение 14 дней не оказывал влияния на поведенческие характеристики мышей в «открытом поле», не изменяя показателей двигательной и исследовательской активности по сравнению с контрольной группой животных.

Таким образом, проведенные исследования показали перспективность указанного направления, свидетельствующего, что микро- и наноразмерные частицы ИПЭК с участием сополимеров эудрагит могут быть безопасными носителями лекарственных веществ для их направленной доставки в определенные области желудочно-кишечного тракта.

Выводы

1 Микро- и наноразмерные частицы ИПЭК с участием сополимеров эудрагит не оказывают общего токсического действия на мышей при пероральном введении в максимально возможных дозах.

2. Исследуемые образцы на основе микро- и наноразмерных частиц ИПЭК при ежедневном применении в течение 14-ти дней не оказывают влияния на поведенческие характеристики мышей в «открытом поле».

3. Микро- и наноразмерные частицы ИПЭК с использованием сополимеров фармацевтического назначения эудрагит могут позиционироваться как безопасные системы доставки лекарственных веществ в определенные области желудочно-кишечного тракта.

Исследования поддержаны грантом Российского научного Фонда № 14-15-01059

Список литературы

1. Мустафин Р.И. Интерполимерные сочетания химически комплементарных типов сополимеров Eudragit® как новое направление в создании пероральных систем доставки и лекарственных форм с модифицированным высвобождением (обзор) // Хим.-фарм. журн.– 2011. – Т. 45, №5. – С.28–39.

2. Мустафин Р.И. Роль межмакромолекулярных взаимодействий полимеров фармацевтического назначения в функционировании пероральных систем доставки лекарств // Росс.хим. журн. – 2012. – Т. LVI, №3-4. – С.97–101.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств [под ред. Миронова А.Н]. Москва, 2012 — 944 с.
4. Семина И.И., Буховец А.В., Протасова А.А., Ситенков А.Ю., Гарипова В.Р., Макарова Е.А., Мустафин Р.И. Изучение безвредности применения инновационных пероральных систем доставки лекарственных веществ на основе интерполиэлектролитных комплексов с использованием полимеров фармацевтического назначения CARBOPOL и EUDRAGIT //Фундаментальные исследования. – 2014. – № 12 (ч. 5). – 2014, – С. 982–986.
5. Dalmoro A., Sitenkov A.Y., Lamberti G., Barba A.A., Moustafine R.I. Ultrasonic atomization and polyelectrolyte complexation to produce gastroresistant shell–core microparticles // J. Appl. Polym. Sci. – doi: 10.1002/app.42976.
6. Dittgen M., Durrani M., Lehmann K. Acrylicpolymers. A reviewofpharmaceuticalapplications // STP Pharma. Sci. – 1997. – Vol.7. – P. 403–437.
7. Moustafine R.I., Bobyleva V.L., Bukhovets A.V., Garipova V.R., Kabanova T.V., Kemenova V.A., Van den Mooter G., (2011). Structural transformations during swelling of polycomplex matrices based on countercharged (meth)acrylate copolymers (Eudragit® E PO/Eudragit® L 100-55), J. Pharm. Sci. – 2011. –Vol. 100(3). – P. 874-885.
8. Moustafine R.I., Bukhovets A.V., Sitenkov A.Y., Kemenova V.A., Rombaut P.,Van den Mooter G. Eudragit® E PO as a complementary material for designing oral drug delivery systems with controlled release properties: comparative evaluation of new interpolyelectrolyte complexes with countercharged Eudragit® L100 copolymers // Mol. Pharm. –2013. –Vol. 10, № 7. – P. 2630–2641.
9. Moustafine R.I., Kabanova T.V., Kemenova V.A., Van den Mooter G. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E 100 with Eudragit L100 // J. Control. Release. – 2005. –Vol. 103. – P. 191-198.
10. Moustafine R.I., Zaharov I.M., Kemenova V.A. Physicochemical characterization and drug release properties of Eudragit® E PO/ Eudragit® L100-55 interpolyelectrolyte complexes // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2006. –Vol. 63(1). – P.26-36.

Рецензенты:

Залялютдинова Л.Н., д.м.н., профессор, кафедры фармакологии ГБОУ ВПО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань;

Валеева И.Х., д.б.н., с.н.с. ГБОУ ВПО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань.