

Е.В. Санарова, Л.Л. Николаева
**СОЗДАНИЕ КОМПЛЕКСНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ**

Научный руководитель: канд. фарм. наук А.В. Ланцова
Лаборатория разработки лекарственных форм
НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей,
НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина, Москва

E.V. Sanarova, L.L. Nikolaeva
CREATION OF A COMPLEX DELIVERY SYSTEM FOR ANTITUMOR DRUGS

Tutor: PhD in pharm. sciences A.V. Lantsova
Drug formulation laboratory
Research Institute of Experimental Tumor Diagnostics and Therapy,
FSBI "National Medical Research Center of Oncology. N. N. Blokhin", Moscow

Резюме. Создание комплексной системы доставки для онкологического препарата ингибитора тирозинкиназ и фотосенсибилизатора на основе фосфолипида и полоксамера/полисорбата позволило преодолеть нерастворимость субстанции и обеспечит в дальнейшем селективное накопление лекарственного препарата в опухоли за счет наноразмера и фотоактивируемого высвобождения.

Ключевые слова: комплексная система доставки, ингибитор тирозинкиназ, фотосенсибилизатор, полоксамер, полисорбат.

Resume. The development of a complex delivery system for the cancer drug tyrosine kinase inhibitor and photosensitizer based on phospholipid and poloxamer/polysorbate has overcome the insolubility of the substance and will further ensure selective accumulation of the drug in the tumour due to nanosize and photo-activated release.

Keywords: complex delivery system, tyrosine kinase inhibitor, photosensitizer, poloxamer, polysorbate.

Актуальность. Область фармацевтических технологий не стоит на месте, в том числе создаются инновационные системы доставки (СД) для известных онкологических лекарственных препаратов (ЛП) – липосомы, мицеллы, микросферы, липидные частицы и др. [3,5,7]. Создание СД актуально, например, для большого класса гидрофобных лекарственных веществ – ингибиторов тирозинкиназ, которые в связи с нерастворимостью субстанции в воде выпускаются в форме таблеток. В пероральной форме применение ИТ во многом ограничено побочными действиями. В связи с этим для улучшения фармакокинетических показателей ИТ предложено включение его в состав СД с добавлением полоксамера [6] или полисорбата [2], кроме того предложено включение фотоактивируемого компонента [1] для реализации селективного выделения в опухоли, обеспечивающего снижение побочных явлений.

Цель: создание комплексной СД для онкологического препарата ИТ, содержащей в качестве фотоактивируемого компонента фталоцианин с целью повышения растворимости противоопухолевой субстанции и селективного накопления в опухоли.

Задачи:

1. выбор СД для преодоления нерастворимости ИТ и обеспечения возможности его парентерального введения, что позволит изменить фармакокинетические показатели ЛП;
2. обеспечение получения наноразмерной СД для селективного накопления в опухолевой ткани за счет особенностей строения опухолевых сосудов (EPR-эффект);
3. эффективное включение в состав СД фотоактивируемого компонента – фотосенсибилизатора, для селективного выделения в опухолевой ткани при её облучении.

Материалы и методы. Материалы и реактивы: ИТ (Acebright, Индия; номер серии PZPC20006PI); фталоцианин алюминия (Россия); Pluronic F68, полуксамер 188 (BASF, Германия); Montanox 80 PPI, твин 80/полисорбат 80 (SEPPIC, Франция); соевый фосфатидилхолин Lipoid S PC, phosphatidylcholine from soybean 98% (Lipoid, США); трихлорметан, хлороформ (Вектон, Россия); вода для инъекций, полученная с помощью системы получения воды для инъекций УВОИ-М-Ф/1812 (Медиана Фильтр, Голландия).

Оборудование:

- технологическое – магнитная мешалка с подогревом MR Hei-Standard (Heildolph, Германия); экструдер Lipex Thermobarell 10 ml (Northern Lipids, Канада); баллон с азотом под давлением (Россия); фильтрационная система Stericup GP Millipore Express Plus с полиэфирсульфоновыми фильтрами, имеющими размер пор 0,22 мкм (Merck Millipore Ltd., Ирландия);
- аналитическое – рН-метр HANNA pH 2211 (Hanna Instruments, Румыния); спектрофотометр Cary 100 (Agilent, США); наносайзер Nicomp 380 Submicron Particle Sizer (Particle Sizing Systems, США.); дзетасайзер Nanoseries Nano-ZS модель 3600 (Malvern, Великобритания).

Технологическая методика получения СД №1: Навески соевого фосфатидилхолина, ФЦ, ИТ растворяли в хлороформе, помещали полученный раствор в цилиндр объемом 50 мл и начинали барботацию азотом с помощью стеклянной полой трубки, опущенной на дно цилиндра, постепенно добавляя заранее приготовленный 4% раствор Pluronic F68 (полуксамер 188), заканчивали добавление после полного удаления органического растворителя и получения прозрачного раствора. Полученный раствор подвергали стерилизующей фильтрации на 2-е сутки после получения [4].

Методика приготовления 4% раствора Pluronic F68: в цилиндр нужно объема (50 мл) отвешивали на весах рассчитанное количество Pluronic F68 (2,0 г) и доводили до метки водой для инъекций, полученный раствор фильтровали с помощью фильтрационной системы Stericup GP Millipore Express Plus.

Технологическая методика получения СД №2: Аналогична методике для СД №1, с заменой 4% раствора Pluronic F68 на 4% раствор Montanox 80 PPI.

Методика приготовления 4% раствора Montanox 80 PPI: в цилиндр нужно объема (50 мл) отвешивали на весах рассчитанное количество Montanox 80 PPI (2,0

г) и доводили до метки водой для инъекций, полученный раствор фильтровали с помощью фильтрационной системы Stericup GP Millipore Express Plus.

Результаты и их обсуждение. В данном исследовании в качестве активных компонентов СД выбраны: противоопухолевое средство, ингибитор тирозинкиназы (ИТ) и фотоактивируемый компонент фотосенсибилизатор – фталоцианин (ФЦ), а в качестве структурных компонентов для СД №1 – полоксамер 188 и соевый фосфолипид; для СД №2 – полисорбат 80 и соевый фосфолипид.

На следующий день после получения СД №1, согласно описанной выше методики, на дне флакона хранившегося в холодильнике (температура + 4°C) появился незначительный осадок белого цвета; значение рН полученного раствора измеренное на рН-метре Hanna Instruments HI 2211 составило 2,9. Полученная дисперсия легко набиралась через иглу шприца объемом 5 мл (диаметр иглы 0,8 мм). Размер частиц определяли на наносайзере Nicomp 380, при этом до фильтрации обнаружили 2 фракции – 263±10 нм (17%) и 650±10 нм (83%); после фильтрации – одна фракция со средним диаметром 265±10 нм (Рис.1 А). Значение Z-потенциала частиц, измеренное на дзетасайзере Nanoseries Nano-ZS, было положительным 0,0374 мВ (Рис.2 А). Содержание ИТ в дисперсии до фильтрации при спектрофотометрическом исследовании – 3,3 мг/мл; после фильтрации через нейлоновые фильтры Pall с диаметром пор 0,22 мкм – 1,3 мг/мл (~ 40% от первоначального содержания). Содержание ФЦ в дисперсии до фильтрации при спектрофотометрическом исследовании – 0,38 мг/мл; после фильтрации через нейлоновые фильтры Pall с диаметром пор 0,22 мкм – 0,30 мг/мл (~ 78% от первоначального содержания). СД стабильна при хранении (+4°C) в течение 1 недели.

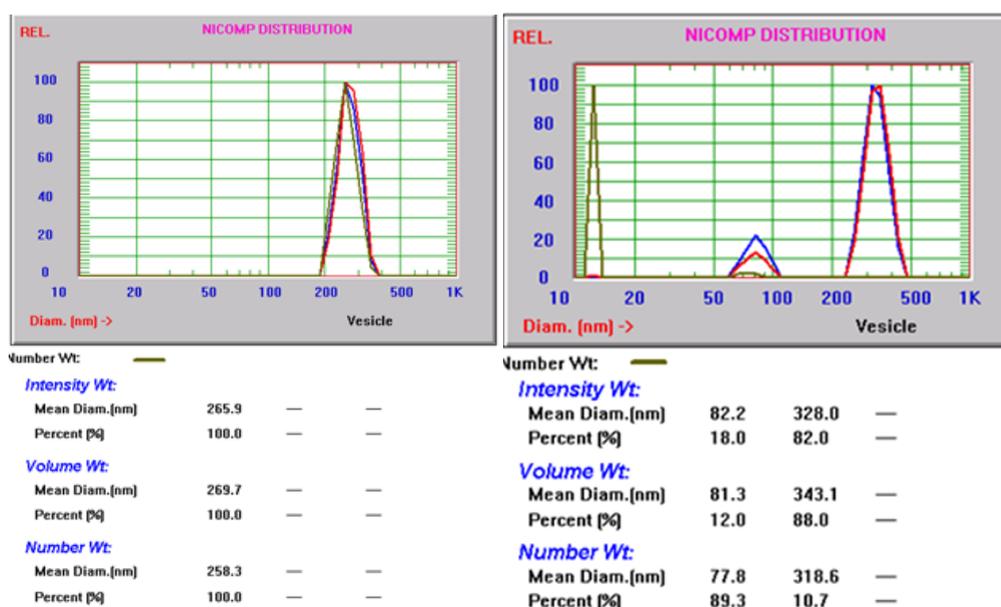


Рис. 1 – Размеры частиц в СД №1 (А) и СД №2 (Б) после фильтрации, измеренные на наносайзере Nicomp 380

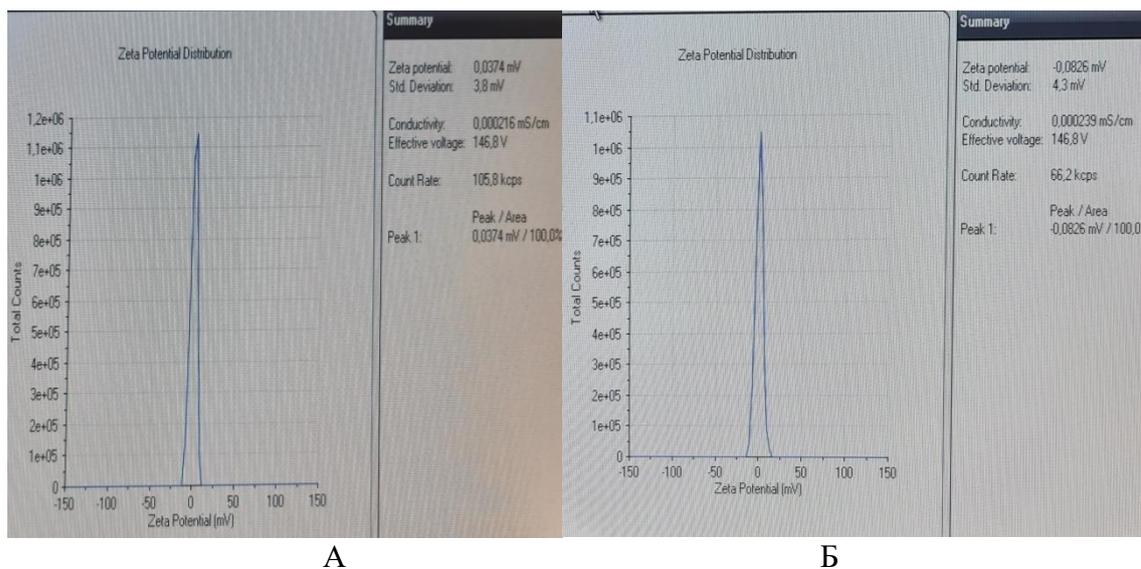


Рис. 2 – Z-потенциал частиц в СД №1 (А) и СД №2 (Б) после фильтрации, измеренные на дзетасайзере Nanoseries Nano-ZS

На следующий день после получения СД №2 на дне флакона хранившегося в холодильнике (температура + 4°C) также появился небольшой осадок белого цвета, значение рН полученного раствора измеренное на рН-метре Hanna Instruments HI 2211 составило 10,2. Полученная дисперсия с трудом набирается через иглу шприца объемом 5 мл (диаметр иглы 0,8 мм). Размер частиц определяли на наносайзере Nicomp 380, до фильтрации обнаружили 2 фракции – 84±10 нм (11%) и 910±10 нм (89%); после фильтрации две фракции - 82±10 нм (18%) и 328±10 нм (82%) (Рис.1 Б). Значение Z-потенциала, измеренное на дзетасайзере Nanoseries Nano-ZS, было отрицательным - 0,0826 мВ (Рис.2 А). Содержание ИТ в дисперсии до фильтрации при спектрофотометрическом исследовании – 2,50 мг/мл; после фильтрации через нейлоновые фильтры Pall с диаметром пор 0,22 мкм (скорость фильтрации очень низкая) – 0,25 мг/мл (~ 10% от первоначального содержания). Содержание ФЦ в дисперсии до фильтрации при спектрофотометрическом исследовании – 0,38 мг/мл; после фильтрации через нейлоновые фильтры Pall с диаметром пор 0,22 мкм – 0,28 мг/мл (~ 74% от первоначального содержания). СД стабильна при хранении (+4°C) в течение 3 дней.

Выводы:

1. выбрана СД на основе соевого фосфатидилхолина и полоксамера 188, позволившая преодолеть нерастворимость ИТ и имеющая приемлемые физико-химические характеристики (содержание ИТ, стабильность при хранении);
2. полученная СД №1 имеет средний размер частиц после проведения стерилизующей фильтрации – 265 нм и положительный заряд, являющийся предпочтительным для СД;
3. включение фотосенсибилизатора в СД №1 было на уровне достаточном для фотоактивации и проведения биологических экспериментов *in vitro/in vivo*.

Литература

1. Меерович И.Г., Санарова Е.В., Меерович Г.А., Деркачёва В.М., Волков К.А., Негри-мовский В.М., Барканова С.В., Лукьянец Е.А., Оборотова Н.А., Смирнова З.С., Бо-рисова Л.М., Ланцова А.В., Полозкова А.П., Орлова О.Л., Лощёнов В.Б., Умнова Л.В., Барышников А.Ю., Ворожцов Г.Н. Инфракрасные фотосенсибилизаторы на основе наноструктурированных форм производных фталоцианинов // Российский химический журнал. 2013. Т. 57. № 2. С. 60-68.
2. Санарова Е.В., Ланцова А.В., Николаева Л.Л., Оборотова Н.А. Применение полисорбатов для создания парентеральных лекарственных форм гидрофобных веществ (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2022. Т. 56. № 7. С. 35-39.
3. Санарова Е.В., Николаева Л.Л., Ланцова А.В., Орлова О.Л. Полимерные микросферы как системы доставки лекарственных веществ // Биофармацевтический журнал. 2022. Т. 14. №4. С. 24-32.
4. Gulyakin, I.D., L.L. Nikolaeva, E.V. Sanarova, A.V. Lantsova and N.A. Oborotova, 2016. Use of Membrane Filters in Production Technology for Sterile Drugs. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 50 (1): 33–37.
5. Lantsova, A., E. Kotova, K. Sanarova, N. Oborotova, A. Poloskova, A. Barushnikov, O. Orlova and V. Krasnov, 2012. Biopharmaceutical study of nanostructured formulation of the anticancer drug derivative of nitrosoalkylurea lysomustine. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 6(22): 469-472.
6. Patel, P., M. Raval, A. Manvar, V. Airao, V. Bhatt, P. Shah, 2022. Lung cancer targeting efficiency of Silibinin loaded Poly Caprolactone /Pluronic F68 Inhalable nanoparticles: In vitro and In vivo study. *Plos ONE*, 17(5): e0267257.
7. Sanarova, E.V., Z.S. Smirnova, A.P. Polozkova, E.V. Ignatjeva, L.M. Borisova, M.P. Kiseleva, G.A. Meerovich, I.G. Meerovich, N.A. Oborotova, 2011. Biopharmaceutical investigations of new liposomal drug form of Tiosens. *Russian Journal of biopharmaceuticals*, 6(3): 33-36.