

Ж. Магхраби¹, Г. Н. Можожкина^{2*}, Р. Н. Аляутдин¹, Е. А. Оганесян³, Н. А. Елистратова²

РАЗРАБОТКА И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НАНОСОМАЛЬНЫХ ФОРМ НЕКОТОРЫХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ

¹Кафедра фармакологии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова;

²Институт фтизиопульмонологии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова;

³Лаборатория биологически активных соединений ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва

*Можожкина Галина Николаевна, д-р мед. наук, гл. науч. сотр. лаб. клинической и экспериментальной фармакологии.
E-mail: mojokina@mail.ru

♦ Разработана методика получения наносомальных форм рифампицина и гатифлоксацина на основе сополимера молочной и гликолевой кислот. В эксперименте на мышах изучена их противотуберкулезная активность в сравнении с таковой стандартных препаратов. Оценивали бактериостатическую активность в отношении микобактерий туберкулеза крови и гомогенатов легких, взятых в определенные временные точки после введения мышам экспериментальных наносомальных образцов рифампицина или гатифлоксацина и их стандартных лекарственных форм. Установлено, что противотуберкулезная активность наносомального рифампицина в легких в 2 раза выше по сравнению с таковой стандартного рифампицина в течение 2 ч после внутривенного введения. Показано, что при внутривенном введении наносомального гатифлоксацина в крови и в ткани легких достигаются более высокие значения бактериостатической активности препарата в отношении микобактерий туберкулеза, особенно по сравнению с энтеральным способом введения субстанции гатифлоксацина.

Ключевые слова: наносомальная лекарственная форма, противотуберкулезные препараты, гатифлоксацин, рифампицин, противотуберкулезная активность, микобактерии туберкулеза

Zh. Magkhrabi, G. N. Mozhokina, R. N. Alyautdin, E. A. Oganesyanyan, N. A. Elistratova

THE DESIGN OF PHARMACOLOGICAL STUDY OF THE NANOSOMAL FORMULATIONS OF SOME ANTITUBERCULOSIS DRUGS

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University

♦ A procedure has been developed to prepare the nanosomal formulations of rifampicin and gatifloxacin based on a copolymer of lactic and glycolic acids. Murine experiments tested the antituberculosis activity of the drugs versus conventional drugs. It evaluated their bacteriostatic activity against *Mycobacterium tuberculosis* in the blood and lung homogenates taken at definite time points after the experimental nanosomal samples of rifampicin or gatifloxacin and their standard dosage forms were administered to mice. The antituberculosis activity of nanosomal rifampicin in the lung was ascertained to be twice higher than that of reference rifampicin within 2 hours after intravenous injection. As compared to the enteral administration of gatifloxacin substance in particular, the intravenous injection of nanosomal gatifloxacin was shown to provide a higher bacteriostatic activity against *M. tuberculosis* in the blood and lung tissue.

Key words: nanosomal formulation, antituberculosis drugs, gatifloxacin, rifampicin, antituberculosis activity, *Mycobacterium tuberculosis*

Известно, что распределение лекарств в организме можно целенаправленно менять как на тканевом, так и на клеточном уровне, используя различные системы доставки. В последние годы отмечается возрастающий интерес к коллоидным системам доставки лекарственных веществ различных фармакотерапевтических групп: липосомам, микрочастицам, наночастицам. Идея использования таких систем для повышения избирательности действия antimicrobных препаратов основана, во-первых, на их способности накапливаться преимущественно в тканях с повышенной проницаемостью капилляров, во-вторых, на том, что коллоидные частицы повторяют путь бактерий — их захватывают инфицированные макрофаги. В последнее время большое внимание уделяется разработке наносомальных форм противотуберкулезных препаратов (ПТП) [1, 2, 4, 5]. В качестве материала для получения наночастиц использовались полимеры, которые отвечают требованиям для препаратов медицинского назначения: биосовместимость, биодegradуемость и низкая токсичность. Полимерные носители получали различными способами, основными были методики диспергирования, диализ и эмульсионные методики. На моделях туберкулезной инфекции показана эффективность применения наносомальных форм ПТП [4, 6, 7]. В связи с этим целью настоящего исследования явилась разработка новой методики получения

наносомальных форм противотуберкулезных антибиотиков рифампицина и гатифлоксацина и изучение их противотуберкулезной активности.

В качестве источника наночастиц был выбран сополимер молочной и гликолевой кислот (ПЛГА) в соотношении 50:50, при котором деградация происходит быстрее, чем при использовании других полилактидов [3]. Наночастицы получали методом нанопреципитации или замены растворителя. Экспериментальные наносомальные формы оценивали по размеру частиц, степени включения лекарственных веществ, стабильности. Установлено, что размер наночастиц гатифлоксацина и рифампицина лежит в субмикронном диапазоне 300—500 нм. Эффективность сорбции на наночастицах ПЛГА для рифампицина оказалась очень высокой (77%). Возможно, включение рифампицина в наночастицы связано с эффективным взаимодействием определенных функциональных групп молекул рифампицина и полимера, а также его физической сорбцией в пористых частицах. Эффективность сорбции на наночастицах ПЛГА для гатифлоксацина оказалась достаточно высокой (41%). Изучение стабильности экспериментальных лекарственных форм показало, что полученные наночастицы устойчивы к замораживанию: суспензия не теряла агрегативной устойчивости по меньшей мере после двух циклов замораживания/оттаивания (-20°С/комнатная температура).

Для изучения противотуберкулезной активности наносомальных форм рифампицина и гатифлоксацина в сравнении со стандартными лекарственными формами использовали методику определения бактериостатической активности крови (БАК)*.

Данный метод позволяет оценить ингибирующую микобактерии туберкулеза (МБТ) концентрацию препарата с учетом его фармакокинетики в организме животного, не требует больших затрат образцов препаратов и количества животных. Исследования проводили на мышах линии BALB/c. В I серии экспериментов оценивали активность наносомального рифампицина в сравнении со стандартным рифампицином для инъекций при их однократном внутривенном введении в дозе 10 мг/кг с последующим забором крови и выделением легких через 0, 1, 2, 4 ч после введения. Из крови и гомогенатов легких готовили разведения (от 1:2 до 1:256) и вместе с взвесью МБТ засеивали на плотную питательную среду Левенштейна—Йенсена. Через 4 нед проводили учет роста колоний МБТ. Максимальное разведение биоматериала, в котором не было значимого роста колоний МБТ, определялось как БАК или бактериостатическая активность препарата в легких (БАПЛ).

Установлено, что максимальное значение БАК наблюдалось сразу после введения препаратов (рис. 1). Через 1 ч отмечалось снижение БАК: при использовании наносомального рифампицина в 4 раза, стандартного — в 8 раз. При этом показатель БАПЛ при применении наносомального рифампицина возрастал в 2 раза, а при использовании стандартного рифампицина не менялся (рис. 2). Через 2 ч после введения бактериостатический эффект продолжал снижаться, но при использовании наносомальной формы — в 2 раза медленнее. Через 4 ч значения БАК и БАПЛ были одинаково низкими (разведение 1:4) при использовании как наносомальной, так и стандартной формы рифампицина. Таким образом, наносомальная форма рифампицина при внутривенном введении проявляет более выраженные противотуберкулезные свойства по сравнению со стандартным рифампицином для инъекций. Вероятно, наночастицы снижают степень связывания рифампицина с белками крови, а также создают лучшие условия для накопления активного препарата в легких.

В другой серии эксперимента оценивали эффективность наносомального гатифлоксацина в сравнении с субстанцией. Мышей разделили на 3 группы в зависимости от лекарственной формы и способа введения. В 1-й группе вводили внутривенно наносомальный гатифлоксацин, во 2-й — субстанцию гатифлоксацина, растворенную в дистиллированной воде, в 3-й — внутрижелудочно вводили субстанцию гатифлоксацина, растворенную в дистиллированной воде. Доза гатифлоксацина (65 мг/кг) является субтерапевтической для мышей. Забор крови и выделение легких с последующим определением БАК и БАПЛ проводили в динамике через 0,5, 2 и 4 ч после введения препаратов.

Через 0,5 ч после внутривенного введения наносомального гатифлоксацина и раствора субстанции гатифлоксацина достигается одинаково высокое значение БАК (разведение 1:16).

При энтеральном применении субстанции БАК в 2 раза ниже, чем при ее внутривенном введении (рис. 3). Однако через 2 ч значения БАК при внутривенном введении наносомальной формы гатифлоксацина и субстанции снизились до уровня, достигнутого при энтеральном приеме. Через 4 ч отмечали равномерное снижение БАК всех препаратов в разведениях до 1:4. Максимальное зна-

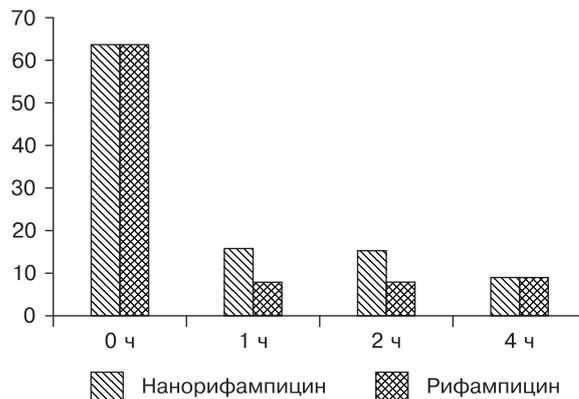


Рис. 1. Бактериостатическая активность крови мышей при внутривенном введении наносомального рифампицина или рифампицина для инъекций.

По оси абсцисс — время забора крови; по оси ординат — кратность разведения крови.

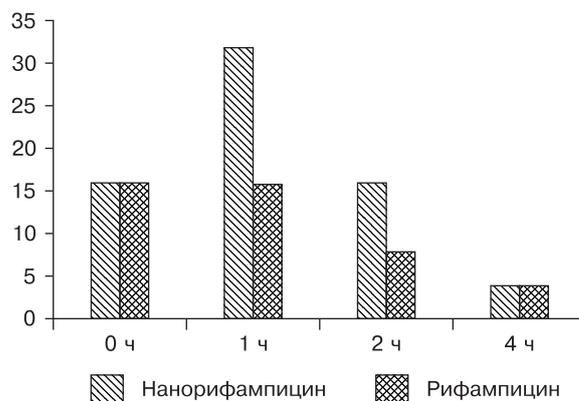


Рис. 2. Бактериостатическая активность препарата в легких мышей при внутривенном введении наносомального рифампицина или рифампицина для инъекций.

По оси абсцисс — время забора биоматериала; по оси ординат — кратность разведения гомогената легких.

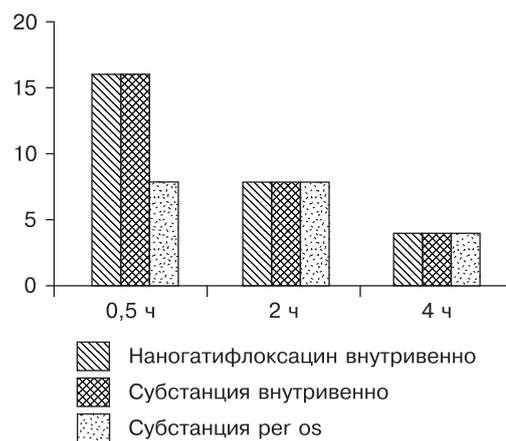


Рис. 3. Бактериостатическая активность крови в зависимости от способа введения и исследуемой формы гатифлоксацина.

По оси абсцисс — время забора крови; по оси ординат — кратность разведения крови.

чение БАПЛ (разведение 1:16) отмечали через 2 ч после введения наносомального гатифлоксацина (рис. 4).

При внутривенном введении субстанции бактериостатический эффект был слабее в 2 раза, а при внутрижелудочном — в 4 раза по сравнению с наносомальной формой. Аналогичная картина по значениям БАПЛ наблюдалась и через 4 ч после введения препаратов. Осо-

*Модификация определения бактериостатической активности крови больных туберкулезом на плотной питательной среде методом серийных разведений: Метод. рекомендации. — М., 1983.

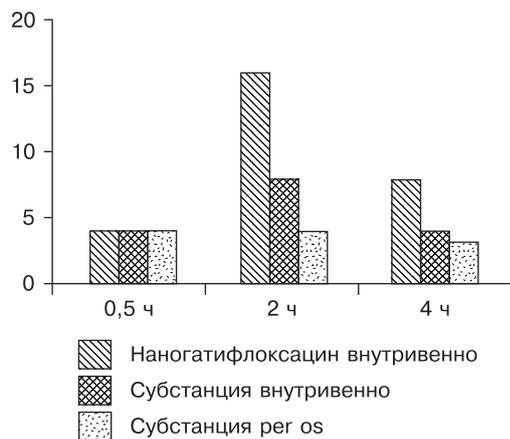


Рис. 4. Бактериостатическая активность препарата в легких в зависимости от способа введения и исследуемой формы гатифлоксацина.

По оси абсцисс — время забора биоматериала; по оси ординат — кратность разведения гомогената легких.

бенно низким был бактериостатический эффект при энтеральном введении субстанции гатифлоксацина. Таким образом, наносомальная форма создавала лучшие условия для накопления гатифлоксацина в ткани легких.

На основании полученных результатов сравнительных исследований можно заключить, что наносомальные лекарственные формы гатифлоксацина и рифампицина при внутривенном введении проявляют более выражен-

ные противотуберкулезные свойства по сравнению со стандартными лекарственными формами. Представляется перспективным дальнейшее изучение противотуберкулезной эффективности полученных образцов наносомальных форм рифампицина и гатифлоксацина при их внутривенном введении на моделях экспериментального туберкулеза и разработка схем ступенчатой химиотерапии в комплексе с другими ПТП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блынская Е. В. Разработка и биофармацевтическое исследование лекарственных форм гатифлоксацина на основе полимерных частиц: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. — М., 2010.
2. Буй К. Получение и изучение фармакологической активности спарфлоксацина, включенного в наночастицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. — М., 2010.
3. Гельперина С. Э. // Астана мед. журн. — 1999. — № 4. — С. 84—88.
4. Гельперина С. Э. Разработка подходов к созданию лекарственных форм антибиотиков на основе полимерных наночастиц: Автореф. дис. ... д-ра хим. наук. — М., 2010.
5. Оганесян Е. А. Подходы к разработке наносомальной лекарственной формы рифампицина: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — 2005.
6. Штупало Е. В., Любимов И. И., Максименко О. О. и др. // Химико-фармацевт. журн. — 2008. — Т. 42, № 3. — С. 43—47.
7. Lenaerts A. J. // Antimicrob. Chemother. — 2005. — Vol. 49, № 10. — P. 4335.
8. Suarez S., O'Hara P., Kazantseva M. et al. // Pharm. Res. — 2001. — Vol. 18, № 9. — P. 1315—1319.

Поступила 04.10.11

УВАЖАЕМЫЕ АВТОРЫ!

Напоминаем, что наш журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы на бесплатной основе значимые результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

В связи с этим обращаем ваше внимание на необходимость указывать на **титuleльном листе** статьи следующие сведения: 1) фамилию, инициалы; 2) название статьи; 3) полное название учреждения и отдела (кафедры, лаборатории), в котором выполнена работа.

Кроме того, согласно новым требованиям ВАК, для публикации в журнале и размещения на сайте издательства просьба представлять **на отдельном листе** сведения о каждом авторе: 1) фамилию, имя и отчество; 2) должность; 3) полный почтовый служебный адрес и e-mail; 4) номер служебного телефона и факса.

При подготовке статьи следует соблюдать правила для авторов, публикуемые в журнале.