

УДК 541.64:547.458
МРНТИ 31.25.19

ДИЗАЙН ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА МЕТОТРЕКСАТ С ПРОЛОНГИРОВАННЫМ ДЕЙСТВИЕМ

МУСАБЕКОВ К.Б., ЕЛЕМЕСОВА К.Ж., МУСАБЕКОВ Н.К.,
РАХЫМБАЕВА П.М., ТАЖИБАЕВА С.М.

Казахский Национальный университет им. аль-Фараби

Аннотация: В работе изучено влияние хитозана (ХТН) и желатина (GEL) на pH-чувствительность кальцийальгинатных микрочастиц (МЧ Ca-Alg).

Показана возможность регулирования скорости набухания МЧ Ca-Alg и высвобождения из них противоопухолевого препарата метотрексата (МТХ) путём введения ХТН и GEL в состав МЧ, а также изменением pH-среды. Установленные закономерности позволяют прогнозировать выход препаратов и создавать полимерные материалы с необходимой скоростью поступления противоопухолевого препарата в организм.

Ключевые слова: иммобилизация, альгинат кальция, противоопухолевый препарат, метотрексат, альгинат натрия, микрочастицы

DESIGN OF ANITUMOR DRUG METHOTREXATE WITH PLOLONGED ACTION

Abstract: In the work the influence of chitosan (CHT) and gelatinous (GEL) on the pH-sensitivity of calcium alginate microparticles (Ca-Alg MP) is investigated.

The possibility of regulation of swelling and methotrexate realizing rates of Ca-Alg MP's by introducing of CHT and GEL in this microparticles also by changing of pH is shown. The established laws allow to predict a yield of drugs and create new polymeric stuffs with necessary speed of receipt antitumor materials in an organism.

Key words: immobilization, calcium alginate, antitumor drug, methotrexate, sodium alginate, microparticles

ПРОЛОНГАЦИЯЛЫҚ ӘСЕРІ БАР ІСІККЕ ҚАРСЫ МЕТОТРЕКСАТ ПРЕПАРАТЫНЫҢ ДИЗАЙНЫ

Аңдатпа: Бұл жұмыста құрамында хитозан (СНТ) және желатин (GEL) бар кальций альгинаты (Ca-Alg) микробөлшектерінің pH – сезімталдығын зерттеу нәтижелері талқыланды. Ca-Alg микробөлшектерінің құрамына ХТН және GEL енгізу барысында оның ісіну жылдамдығын реттеу мүмкіндіктерін және ортаның pH-ын өзгерту арқылы ісікке қарсы метотрексат (МТХ) препаратының босап шығу мүмкіндігі көрсетілген. Бұл заңдылықтар МТХ препаратының ағзаға түсу жылдамдығы мен жаңа полимер материалдарын жасауға және одан дәрілік заттың босап шығуын алдын ала болжауға мүмкіндік береді.

Түйінді сөздер: иммобилизация, кальций альгинаты, ісікке қарсы дәрілік зат, метотрексат, натрий альгинаты, микробөлшектер

Введение

В последние годы особое внимание уделяется созданию полимерных препаратов с пролонгированным лечебным действием [1]. Это связано с необходимостью устранения существенного недостатка большинства используемых лекарственных средств – кратковременный период фармакологического действия. Обычно улучшение лечебного действия лекарственного препарата (ЛП) достигается за счет увеличения частоты приема [2]. Однако при этом усиливаются нежелательные побочные эффекты.

В последнее время было разработано множество новых методов лечения опухолевых заболеваний. Тем не менее Метотрексат (МТХ) остается “якорным препаратом” для большинства пациентов с конца 1980-х годов [3]. Среди других цитостатиков (МТХ) используется очень часто по своим некоторым положительным характеристикам. Препарат МТХ (4-Амино-N10-метилптероилглутаминовая кислота или дезокси-4 амино – N10 – метилфолиеиновая кислота) цитостатическое лекарственное средство, относящееся к группе метаболитов, антагонистов фолиевой кислоты.

Одним из возможных путей решения этой проблемы является использование т.н. макромолекулярных терапевтических средств (МТХ), представляющих собой композицию ЛП с водорастворимыми и водонабухающими полимерами [4]. Преимущества МТХ перед традиционными способами применения ЛП состоят в обеспечении пролонгированной, т.е. длительной подачи лекарства по заданной программе, существенном уменьшении дозы вводимых в организм ЛП и соответственно, в ослаблении побочных действий последних [5-8].

Разработка МТХ зависит от его назначения – для создания инъекционных форм МТХ необходимо использовать водорастворимые полимеры (ВРП); при разработке трансдермальных форм, а также МТХ для приема *in vitro* и *in vivo* желателен использование нерастворимых, водонабухающих форм природных и синтетических полимеров [4].

Разработка пероральных форм МТХ требует учета влияния рН-среды желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), который варьирует от кислого в желудке до слабощелочного в кишечнике [9].

В качестве полимерной основы при создании пероральных форм МТХ довольно часто используются нетоксичные, биосовместимые и биоразлагаемые, а также сравнительно дешевые полисахариды, в частности, хитозан (ХТН) и альгинат натрия (Na-ALG). Они способны образовывать водонабухающие гидрогели при формировании интерполимерного комплекса или в присутствии противоположно заряженных минеральных ионов [10].

Иммобилизованные в такие гидрогели ЛП, медленно высвобождаясь, создают длительно действующий лекарственный фон.

Ранее было показано, что кинетика высвобождения в физиологическом растворе противотуберкулезного препарата циклофосфида (ЦФА), иммобилизованного в микрочастицах (МЧ) альгината кальция (Ca-ALG), определяется структурой микрочастицы, концентрацией ЦФА, а также толщиной хитозанового покрытия на этих микрочастицах [11].

Настоящая работа посвящена иммобилизации противоопухолевого препарата метотрексата (МТХ) в микрочастицах бионаноконструкта ХТН/Ca-ALG.

Экспериментальная часть

В работе использовали натриевую соль альгиновой кислоты (Na-ALG), содержащую маннуриновую и гулуриновую кислоты в соотношении 1,85, со среднечисленной молекулярной массой $1,08 \cdot 10^5$ (“Sigma”, США). Соотношение маннуринованных и гулуриновых звеньев в Na-ALG определяли на основании прилагаемых к ним фирмой ИК – с Фурье преобразованием спектров по известной методике [12].

Хлорид кальция (CaCl_2), гранулированный по ГОСТ 4460 – 77, соляная кислота (HCl) и гидроксид натрия (NaOH) квалификации “х.ч.” получены от “Реахим”, Россия. Триполифосфат натрия (Na - ТПФ) и другие

реагенты имели квалификацию «ч.д.а.», использовали без дополнительной очистки.

2.2. Двойная иммобилизация МТХ в микрочастицах ХТН/Са – ALG.

Хитозан (0,5 г) растворяют в 39,5 мл 2,5% (W/v) уксусной кислоты. Затем в раствор при интенсивном перемешивании добавляют МТХ (0,5 г) до получения однородной суспензии. 10 мл полученного раствора капельно через шприц с иглой с внутренним диаметром 0,45 мм вводили в 4% (W/v) раствор Na–ТПФ (100 мл) при комнатной температуре. Образовавшиеся сферы хитозана размером 0,98 мм оставили в растворе Na–ТПФ для затвердевания в течение 15 мин, затем промыли дистиллированной водой. Далее микрочастицы измельчали три раза по 1 минуте в кофемолке со скоростью 22000 об/мин (модель JYL -350, 350W, Jiu – Yang Corp., Китай), отцентрифугировали и трижды промывали дистиллированной водой. На следующем этапе порошкообразные МЧ ХТН с иммобилизованным МТХ повторно иммобилизовали в микрочастицах Са–ALG. Для этого альгинат натрия (0,8 г) и желатин (0,2 г) растворяли в дистиллированной воде (49 мл). Затем в раствор добавляли порошок МЧ ХТН с иммобилизованными МТХ и перемешивали в течение 30 минут до образования однородной суспензии. Затем 10 мл этой суспензии капельно через шприц вводили в 6%-ный раствор CaCl₂ (100 мл) при комнатной температуре. Сформировавшиеся шарообразные МЧ МТХ/ХТН/Са–ALG/Gel (МЧ-2) с диаметром 1,80 мм выдерживали 15 мин в растворе, отфильтровали и сушили при комнатной температуре в течение 24 часов.

Результаты и их обсуждение

Для выбора оптимальных условий с точки зрения рН-чувствительности получения лекарственной формы МТХ исследовали влияние рН среды физиологического раствора на набухаемость МЧ-2 и высвобождение из них иммобилизованного МТХ. Изучение набухаемости МЧ показало, что в кислой среде (рН=1,2) они обладают незначительной набухаемостью К_{наб} для МЧ-1 (МТХ/Са–ALG/

Gel) при продолжительности процесса 24 часа составляет всего лишь 1,22, а для МЧ-2 – 1,77. При повышении рН среды до 7,4 значения К_{наб} для МЧ-1 и МЧ-2 за тот же самый период составляют 7,15 и 4,42, соответственно, демонстрируя существенную рН-чувствительность рассматриваемых микрочастиц. Обращает на себя внимание большая чувствительность к уменьшению рН среды МЧ-1 по сравнению МЧ-2. Этот эффект может быть связан с содержащимся в МЧ-2 гидрофильным ХТН.

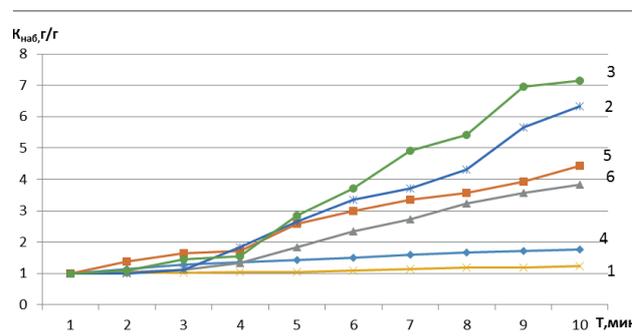


Рис. 1 – Кинетика набухания микрочастиц МТХ/ХТН/Са-ALG/GEL(1-3) и МТХ/Са-ALG/GEL(4-6) при рН: 1.2(1,4), 5.0(2,5) и 7.4(3,6). T=293K

В работе [10] было показано, что улучшение набухаемости микрочастиц Са-ALG/GEL способствует ускорению высвобождения иммобилизованного в этих микрочастицах Рихлокаина в физиологический раствор.

Результаты исследования кинетики высвобождения МТХ из микрочастиц М-1 и М-2 также свидетельствуют об ускорении этого процесса с ростом К_{наб} микрочастиц. О кинетике высвобождения ЛП из микрочастиц судили по кинетике изменению оптической плотности физиологического раствора, находящегося в контакте с иммобилизованным в этих частицах МТХ.

Как видно из рисунка 2, с ростом рН среды в пределах от 1,2 до 7,4 значения А для МЧ-1 увеличивается в 2,5-5,3 раза соответственно. Аналогичное явление наблюдается при высвобождении МТХ из МЧ-2 в физиологический раствор.

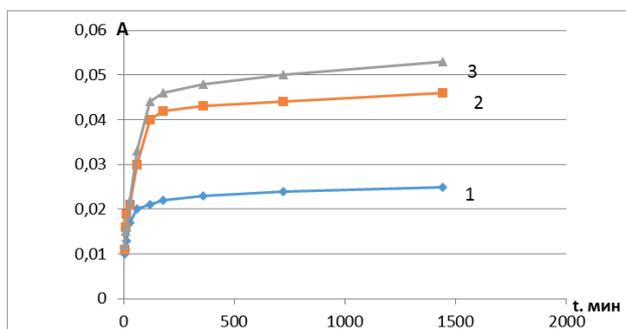


Рис. 2 – Кинетика высвобождения метотрексата из микрочастиц Ca – ALG/GEL в 0,9%-ный раствор NaCl при pH = 1.2(1), 5.0(2) и 7.4(3). Содержание метотрексата в микрочастицах 100 мг/г. T=293K

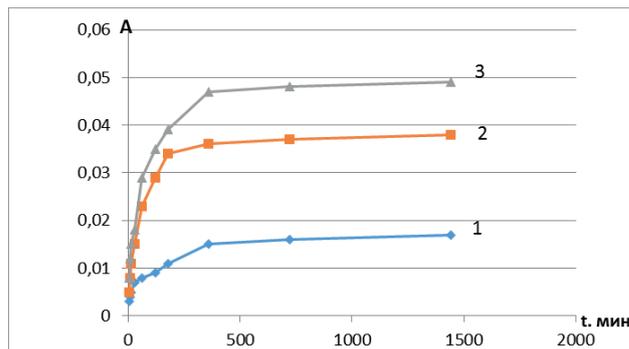


Рис. 3 – Кинетика высвобождения метотрексата из микрочастиц CHI/ALG/GEL в 0,9%-ный раствор NaCl при pH = 1.2(1), 5.0(2) и 7.4(3). Содержание метотрексата в микрочастицах 100 мг/г. T=293K

Удельные изменения значения A при pH=1,2 и 7,4 составляют 5,7 и 6,2 соответственно. Для получения дополнительной информации о свойствах МЧ-1 и МЧ-2 представляется целесообразным сравнение предельных значений A для МЧ. (рис. 3) Такое сравнение показывает, что при pH=1,2 МЧ-1 в 1,47 раза (0,025/0,017=1,47), а при pH=7,4 всего лишь в 1,08 раза (0,053/0,049=1,08) дольше чем МЧ-2 высвобождает МТХ.

Таким образом результаты исследования показывают перспективность иммобилизации

противоопухолевого препарата Метотрексата в модифицированных с помощью хитозана и желатина микрочастицах альгината кальция для создания полимерной формы этого препарата с пролонгированным высвобождением. Обнаружено, что ХТН усиливает pH-чувствительность МЧ на основе Ca-ALG, проявляющаяся в улучшении набухаемости микрочастиц и ускорении высвобождения из них МТХ при увеличении pH физиологического раствора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Платэ Н.А., Васильева А.И. Физиологически-активные полимеры. – М.: Химия, 1986. – 296 с.
2. Батырбеков Е.О., Н.К. Мусабеков, Б.А. Жубанов, К.Б. Мусабеков. Дизайн гипотензивного и местно-анестезирующего препаратов с пролонгированным действием//Вестник КазНУ, серия химическая, №3(35), 2004. – С. 233-239.
3. ME Weinblatt, JS Coblyn, DA Fox, et al. Efficacy of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis N Engl J Med, 312 (1985), pp. 818-822
4. Жубанов Б.А., Батырбеков Е.О., Исаков Р.М. Полимерные материалы с лечебным действием. – Алматы: Комплекс, 2000. – 220 с.
5. Васильева А.Е., Фельдштейн М.М. Полимерные материалы. Макромолекулярные терапевтические средства. – М.: ВНИИЦ, 1983. – 77 с.
6. Триханова Г.А., Григорьянц И.К. Полимерные материалы и устройства для контролируемого дозирования лекарственных препаратов //Пластич. массы, 1998. – №3. – С.35-49.
7. Молигевич И.М., Мейя Н.В. Полимерные системы для регулируемого выделения лекарственных веществ// Хим.-фарм. журнал, 1989. – №3. – С.361-372.
8. Hsien D.S. Controlled Release Systems: Fabrication Technology-CRC Press, Boca Raton: Florida, 1988. 196 p.

9. M. George, T.E. Abraham, J. Controlled Release//4 (2006), 1.
10. Р.М. Искаков, Е.О. Батырбеков, И.Э. Сулейменов, Е.А. Бектуров, Б. А. Жубанов. Полимерные биоматериалы. – Алматы: ТОО “Print-SS”, 2006. – С.273.
11. Д. Григорьев, К.Б. Мусабеков, Н.К. Мусабеков, Ж.Ж. Кусаинов. Иммобилизация противоопухолевого препарата циклофамида в альгинате кальция. //Высокомолекулярные изделия. Серия А, 2017. – Т. 59. – С. 341-349.
12. P.L. Kashyapa, X. Xiang, P. Heiden. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture//International Journal of Biological Macromolecules, 2014, V-77, p 36-51.