

Перспективи розробки ліпосомального лікарського засобу

з дегідрокверцетином для лікування ран

Ахтямова Д.В., Тарасенко Г.В., Куришко Г.Г.

Кафедра промислової фармації

Київський національний університет технологій та дизайну, м.Київ, Україна

daria.ahtyamova@gmail.com

Протягом останніх декількох десятиліть в усьому світі активно проводяться дослідження щодо створення інноваційних препаратів, які містять системи спрямованої доставки або системи спрямованого транспорту активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ). Такі системи дозволяють контролювати розподіл АФІ в тканинах, адсорбцію, метаболізм і виведення АФІ з організму пацієнта, а також поліпшувати біодоступність і біосумісність лікарських засобів (ЛЗ) [3]. Особливий інтерес в області розробки систем спрямованого транспорту АФІ викликають переносники на основі фосфоліпідів (ліпосоми).

На даний час світовою фармацевтичною промисловістю розроблені, виробляються і виведені на ринок уже понад 30 ліпосомальних препаратів спрямованої дії [4]. АФІ у ліпосомальній формі є широко розповсюдженим комерційним продуктом. За даними реферативного збірника «Винаходи країн світу», опубліковано понад 670 патентних документів, що є результатом вивчення ліпосом. У цій галузі лідерами є Японія, США, Німеччина, Франція, Великобританія та Швейцарія.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) щорічно в світі одержують травми більше ніж 50 млн осіб, реєструється понад 25 млн випадків звернень із рубцями та рубцевими деформаціями. Велика кількість травм шкіри пов'язана зі стрімким розвитком виробництва, зростає відсоток побутового травмування. Основними причинами виникнення ран є хірургічне втручання, виробничий та побутовий травматизм. Ушкодження шкіри займають одне з перших місць у структурі загального травматизму.

У результаті аналізу Державного реєстру лікарських засобів України встановлено, що на ринку України немає жодного ліпосомального ЛЗ для лікування ран. Тому, розробка технології виробництва ліпосомального ЛЗ з дегідрокверцетином (ДГК) для лікування ран у формі гелю є важливим та актуальним.

Матеріали і методи. Дослідження проведено шляхом огляду наукових та науково-практичних літературних джерел, патентів, а також порівнянням асортименту ранозагоювальних ЛЗ на основі інформації та матеріалів Державного реєстру лікарських засобів України станом на 15.10.2020 р. Мікроскопічне вивчення будови та форми кристалів

досліджуваних речовин та отриманих ліпосом проводили на лабораторному мікроскопі JNOES XS-212-201 при збільшенні 40х.

Результати та їх обговорення. На фармацевтичному ринку України ранозагоювальні ЛЗ представлені достатньо широким якісно-складовим та ціновим асортиментом, у тому числі за рахунок ЛЗ вітчизняного виробництва, ціни на які переважно є суттєво нижчими порівняно з імпортними препаратами.

Згідно з міжнародною АТХ-класифікацією (Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification system) препарати для обробки та лікування ран і пошкоджень шкіри включено до групи D Дерматологічні засоби: підгрупи D03 Дерматологічні засоби для лікування ран і виразкових уражень, підгрупи D06 Антибіотики і хіміотерапевтичні препарати для застосування в дерматології та D08 Антисептичні і дезінфікуючі засоби. Станом на 15.10.2020 р. асортимент зареєстрованих ЛЗ підгрупи D03A Препарати, що сприяють загоєнню (рубцюванню) ран становить 56 торгових назв, з них 43 (76,8%) ЛЗ вітчизняного виробництва та 13 (23,2%) ЛЗ закордонного виробництва представлених 7 країнами. Аналіз зареєстрованих на українському фармацевтичному ринку ранозагоювальних ЛЗ показав, що спостерігається домінування ЛЗ вітчизняного виробництва, представлених 21-ма фірмами-виробниками. Домінуючими АФІ, які входять до складу ЛЗ є: дексапантенол, метилурацил, мірамістин, а також спиртові витяги у вигляді настоек календули квіток, шавлії листя та прополісу. Розподіл зареєстрованих ранозагоювальних ЛЗ за країнами-виробниками наведений на рис 1.

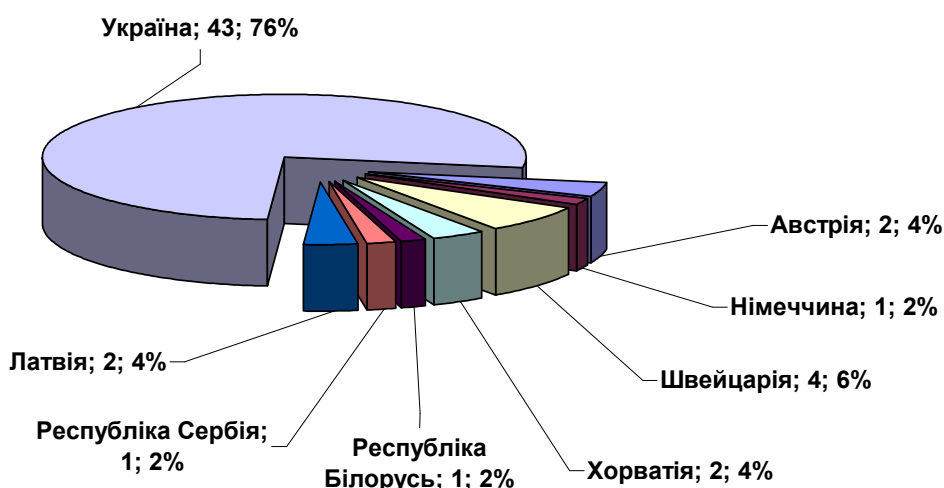


Рис 1. Розподіл зареєстрованих ранозагоювальних ЛЗ за країнами-виробниками

Переважає кількість лікарських форм ранозагоювальних ЛЗ представлені у формі мазей (42%), спиртових настоек (23%) та по 9% ЛЗ представлені у формі крему і піни нашкірної. Отже, асортимент ЛЗ ранозагоювальної дії представлений переважно у м'яких

лікарських формах у вигляді мазі. Розподіл зареєстрованих ранозагоювальних ЛЗ за лікарськими формами наведено на рис. 2.

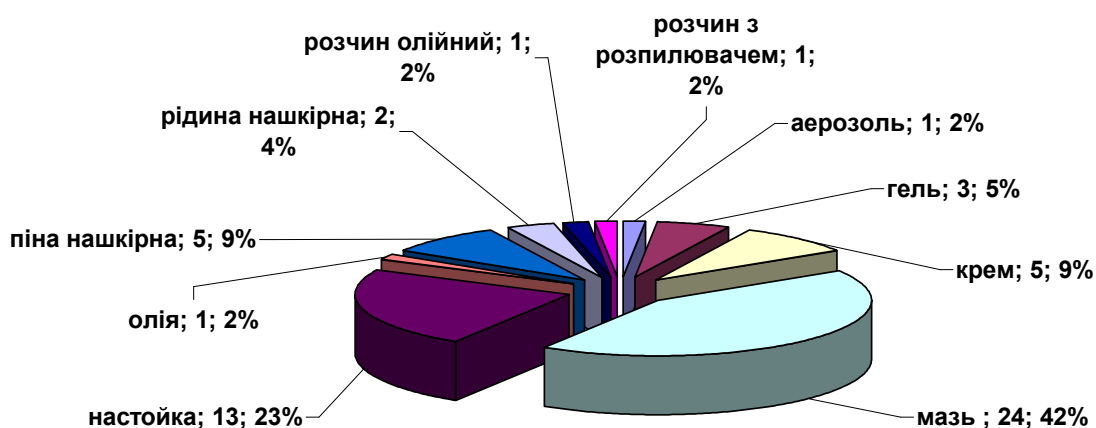


Рис 2. Розподіл зареєстрованих ранозагоювальних ЛЗ за лікарськими формами

М'які лікарські форми, що містять ліпосоми, у порівнянні з традиційними мазями, кремами і гелями мають більш проникну здатність по відношенню до шкіри, саме тому є більш доступними для живих клітин, а отже і більш ефективними [5]. Численними дослідженнями доведено, що ліпосоми активно реагують з епідермоцитами, вони легко проникають у шкіру (аж до підшкірної клітковини) і засвоюються, взаємодіючи з білками шкіри і ліпідами клітинних мембран. Вони можуть зливатися з клітинами, переносючи АФІ всередину, захоплюватися клітинами, вносячи в них свій вміст, обмінюватися з кліткою ліпідами зі своєї оболонки [6].

Ліпосоми є замкнутими, найчастіше сферичними структурами, в яких гідрофільна складова оточена ліпідним біошаром, що містить молекули фосфоліпідів, полярні частини яких обернені в водну фазу, а неполярні один до одного [4]. Введені в організм ліпосоми, в середині яких депоновано АФІ, взаємодіють з мембранами клітин, зв'язуються з ними і передають клітині АФІ.

Основою для отримання ліпосом, як правило, є лецитин (соевий або ячний), що забезпечує отримання досить стійких ліпосом. Лецитин – це фосфоліпід (ФЛ), який бере участь в утворенні мембран клітин. ФЛ є головним структурним компонентом усіх клітинних мембран організму. Основною властивістю фосфоліпідів, як природних біологічно активних речовин, є дифільність, що визначає різноманіття утворених ними структур у водних дисперсіях і, принаймні, утворення витянутих біошарів – основи біологічних і модельних мембран – ліпосом [4].

Ліпосомальні препарати мають низку незаперечних переваг [7]:

– захищають клітини організму від токсичної дії лікарських засобів;

- пролонгують дію введеного в організм лікарського засобу;
- захищають лікарські речовини від деградації;
- сприяють спрямованій специфічності за рахунок селективної проникності з крові у тканини;
- змінюють фармакокінетику лікарських препаратів, підвищуючи їх фармакологічну ефективність;
- дозволяють створювати водорозчинну форму низки лікарських субстанцій, таким чином збільшуючи їх біодоступність.

Відомо, що біофлавоноїди, завдяки високій антиоксидантній активності, здатні запобігати вільнорадикальному окисненню, надмірному окисненню ліпідів, білків, нуклеїнових кислот, тим самим, захищати мембрани клітин від пошкодження оксидантами. Накопичена велика доказова база щодо їх ангіопротекторної, антиоксидантної, протизапальної, ранозагоювальної, і противірусної дії [1]. Різні види ран, особливо інфіковані, характеризуються розвитком окисного стресу відповідних тканин, що супроводжується зміною складу мембран клітин, порушенням їх функціональних властивостей та активності мембранозв'язаних ферментів. Тому, використання біофлавоноїдів, що мають мембрано-протекторну і високу антиоксидантну активність, є ефективним при лікуванні даної патології.

Перелік сучасних препаратів, що містять у своєму складі біофлавоноїди, і які зареєстровані в Україні, порівняно невеликий. Найвідомішими біофлавоноїдами, які входять до складу зареєстрованих ЛЗ є рутин та кверцетин. .

Дегідрокверцетин (ДГК, *Taxifolin*) за молекулярною будовою і функціям близький до кверцетину і рутину, але перевершує їх за фармако-біологічною активністю, що має значні антиоксидантні властивості. Доклінічними дослідженнями встановлено, що ДГК, у порівнянні з кверцетином, володіє менш токсичними і мутагенними властивостями, він нетоксичний, і його застосування не викликає алергічних, імунодепресивних реакцій, ембріотоксичного, тератогенного і мутагенного ефектів [9].

Основними джерелами для виділення ДГК є модрина сибірська (*Larix sibirica Ledeb.*) або модрина даурська (*Larix dahurica Turcz.*), в яких він накопичується у значній кількості в деревній частині. ДГК гальмує передчасне старіння клітин і розвиток різних захворювань; зміцнює стінки судин, покращує мікроциркуляцію; пригнічує запальні процеси, виявляє протинабрякову дію; сприятливо впливає на шкірні покрови, нормалізує синтез колагену/еластину в шкірі. Основна проблема використання ДГК в якості АФІ у складі ЛЗ полягає у «доставці» препарату до «місця дії» в організмі. Внаслідок високої молекулярної маси ДГК та нерозчинності у воді, проникнення його через верхній шар шкіри мінімальне [8]. Дану проблему можна вирішити, а саме підвищити біодоступність ДГК, шляхом включення

його до переносників на основі фосфоліпідів – ліпосом. Розробка фармацевтичної композиції у вигляді комплексу ліпосом і ДГК має наступні переваги: ліпосоми дозволяють виключити взаємодію антиоксиданту з зовнішніми окиснювальними факторами, а антиоксидант, що знаходиться у дисперсійній фазі і одночасно включений у ліпосомальну мембрану – захищає молекули лецитину від окислення.

Для одержання ліпосом як ліпосомальну основу нами було використано наступні речовини: лецитин соєвий (Novastell, Франція), гідрогенізований соєвий лецитин марки Lecinol S-10 (Nikko Chemicals, Японія) та гідрогенізований лецитин марки Cosphaderm® E 100 E IP (Cosphatec, Німеччина). Для створення ліпосомальних форм в якості АФІ нами було обрано кверцетин та ДГК.

На початку досліджень було проведено вивчення кристалографічних характеристик кверцетину, ДГК та лецитинів різних марок. Мікроскопічне вивчення будови та форми кристалів досліджуваних речовин наведено рис. 3 та 4.

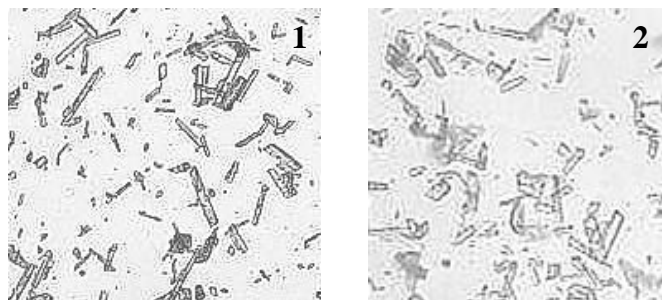


Рис. 3. Будова кристалів: 1) кверцетину; 2) ДГК.

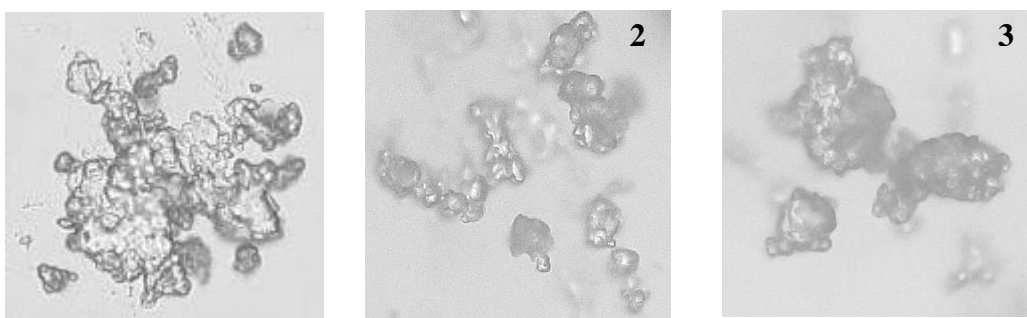


Рис. 4. Кристалографічна будова соєвого лецитину: 1) соєвий лецитин; 2) Lecinol S-10; 3) Cosphaderm® E 100 E.

Отримання кверцетину та ДГК у формі ліпосом проводили наступним чином: готували 15%-і спиртові розчини соєвого лецитину та гідрогенізованих лецитинів марок Lecinol S-10 і Cosphaderm® E 100 E IP. Розчинення кверцетину та ДГК проводили у 95%-му етиловому спирті при температурі $55 \pm 5^\circ\text{C}$ впродовж 15-20 хвилин до повного розчинення компонентів. Далі одержані

розчини лецитинових емульсій змішували з спиртовими розчинами кверцетину та ДГК і проводили процес отримання ліпосомальних везикул в гомогенізаторі з використанням ультразвуку впродовж 30-40 хвилин при температурі $45 \pm 5^\circ\text{C}$.

Мікроскопічне вивчення отриманих ліпосом з кверцетином та ДГК наведено на рис. 5 та 6.

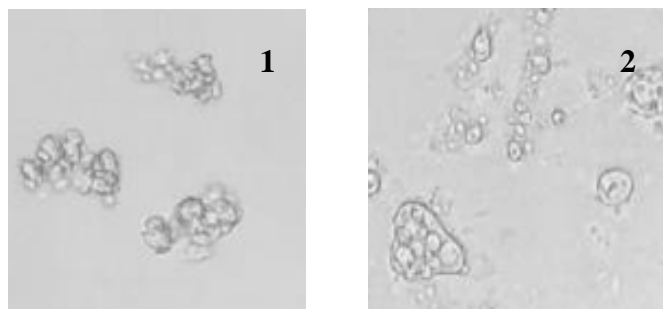


Рис. 5. Ліпосоми на основі соєвого лецитину: 1) з кверцетином; 2) з ДГК.

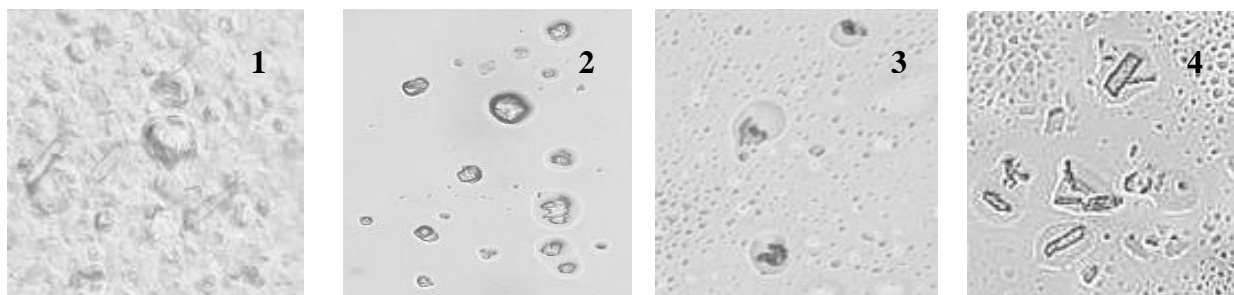


Рис. 6. Ліпосоми на основі гідрогенізованого лецитину:
на основі Lecinol S-10: 1) з кверцетином; 2) з ДГК
на основі Cosphaderm® E 100 E: 3) з кверцетином; 4) з ДГК

У результаті проведених досліджень встановлено, що процес одержання ліпосомальних форм кверцетину та ДГК на основі соєвого лецитину (рис. 5) не призводить до одержання сформованих везикул з вмістом АФІ, а призводить до утворення невпорядкованих конгломератів. Можна припустити, що для утворення ліпосомальних форм на основі соєвого лецитину необхідно проводити попереднє диспендування суспензій шляхом екструзії, а потім піддавати їх ультразвуковій обробці. Як видно з рис. 6, найкращі властивості одержуються при застосуванні як ліпосомальної основи гідрогенізованого лецитину Lecinol S-10. Перспективою подальших досліджень є розробка складу та технології виробництва ліпосомального ЛЗ на основі ДГК у формі гелю ранозагоювальної дії.

Висновки. На основі аналізу фармацевтичного ринку України встановлено, що переважна кількість ЛЗ для лікування ран предствлені у формі мазей або настоянок, тому розробка ліпосомальних ЛЗ дозволяє підвищувати біодоступність препаратів. У результаті

проведеного аналізу запропоновано використати як АФІ для ліпосомального ЛЗ ранозагоювальної дії біофлаваноїд природного походження – ДГК. Мікроскопічним аналізом доведено, що використання як основи для одержання ліпосом гідрогенізованого лецитину марки Lecinol S-10 призводить до отримання ліпосом з задовільними характеристиками, що дозволяє їх в подальшому використовувати як АФІ для розробки ліпосомальних ЛЗ для лікування ран.

Література:

1. Актуальные проблемы биотехнологии и биоинженерии [Текст] : монография / [И. А. Белых и др.] ; под ред. А. Н. Огурцов ; Нац. техн. ун-т «Харьков. политехн. ин-т». – Харьков : Типография Мадрид, 2019. – 239 с
2. Бангэм А.Д. Развитие представлений о липосомах / А.Д. Бангэм // Липосомы в биологических системах: пер. с англ. / А.Д. Бангэм [и др.]; под ред. Г. Грегориадиса, А. Аллисона. - М., 1983. - С.13-35.
3. Демина Н.Б. Биофармация – путь к созданию инновационных лекарственных средств // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 5.
4. Краснопольский Ю. М. Фармацевтическая биотехнология: бионанотехнология в фармации и медицине : учеб. пособие / Ю. М. Краснопольский, А. С. Дудниченко, В. И. Швец ; Нац. техн. ун-т "Харьков. политехн. ин-т". – Харьков : НТУ "ХПИ", 2011. – 228 с.
5. Кузякова Л.М., Носенко М.А. Исследования фитокомплекса лекарственных трав для практической реализации в косметологии // Материалы международной научно-практической конференции «Биоресурсы, биотехнологии, инновации юга России».- Пятигорск, 2003.- С.249-252.
6. Методологические подходы и разработка технологии липосомальных лекарственных и лечебно-профилактических препаратов: докторская диссертация Кузяковой Л.М. / г. Пятигорск, 2000.
7. Чекман І. С. Ліпосомальні форми лікарських засобів: від експерименту до клініки / І. С. Чекман, Л. В. Савченкова, Н. О. Горчакова // Журн. АМН України. – 2006. – Т. 12, № 4. – С. 653–667.
8. Пат. 2369383 Российская Федерация, МПК А61К 9/107, А61К 9/127, А61К 31/357, А61К 47/16, А61J 3/00, А61Р 17/02. Фосфолипидная эмульсия, включающая дигидрокверцетин, и способ ее получения.; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "Научная компания "Фламена". заявл. 10.05.2009; опубл. 10.10.2009, Бюл. № 28.
9. Scientific Opinion on taxifolin of rich extract from Dahurian Larch (*Larix gmelinii*) // EFSA Journal. – 2017. – Vol.15, Iss. 2. URL: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4682>.