

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ НЕГАТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

В. В. Тарасов, Р. Н. Аляутдин, Л. А. Павлова, И. И. Краснюк

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации
Поступила в редакцию 10.12.2012 г.

Аннотация. Статья посвящена исследованию фармакологических эффектов наночастиц с феназепамом в области высоких доз 3 мг/кг и 5 мг/кг во времени. Показано достоверное отличие в выраженности миорелаксирующего и седативного эффектов у наночастиц феназепама в сравнении с субстанцией.

Ключевые слова: феназепам, наночастицы, седативный эффект, миорелаксация.

Abstract. This article concerns with the time investigation of phenazepam nanoparticles pharmacological effects in the high dose (3 mg/kg and 5 mg/kg) area. Article shows statistically significant difference of myorelaxing effect and sedation intensity in nanoparticles and phenazepam active pharmaceutical ingredient.

Keywords: phenazepam, nanoparticles, sedation, muscle relaxation.

ВВЕДЕНИЕ

Снижение выраженности побочных эффектов лекарственных препаратов является актуальной проблемой фармации. Для решения данной проблемы применяются различные подходы, в том числе применение новых или модифицированных лекарственных форм. Одним из способов уменьшения нежелательных эффектов является использование наноразмерных систем доставки, способных изменить распределение лекарственных веществ в организме.

Наличие нежелательных эффектов является серьезным ограничивающим фактором для анксиолитиков бензодиазепинового ряда, в частности феназепама (ФЗ), диазепама, медазепама. Так, бензодиазепины обладают выраженным анксиолитическим действием, оказывая при этом седативное и миорелаксирующее влияние, что ограничивает возможность применения препаратов этой группы [1].

Включение феназепама в наночастицы (ФЗ-НЧ) позволило снизить седативное и миорелаксирующее действия при введении дозы 1 мг/кг, сохранив при этом идентичную ФЗ-субстанции анксиолитическую активность [2]. При этом не исследовалось действие наносомального феназепама в более высоких дозах, а также продолжительность воздействия.

Однако, целью настоящей работы являлось дальнейшее исследование развития выраженности нежелательных эффектов при приеме заведомо высоких доз наносомального феназепама во времени.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Наночастицы с феназепамом получали при помощи модифицированной методики анионной полимеризации в водной среде [3; 4]. В основе методики лежит способность мономера (бутилцианоакрилата) полимеризоваться с образованием стабильных частиц размером 215 ± 10 при значениях $pH=2-3$. Выбор бутилцианоакрилата обусловлен низкой

© Тарасов В. В., Аляутдин Р. Н., Павлова Л. А., Краснюк И. И., 2013

токсичностью, биodeградируемостью и способностью эффективно иммобилизовывать вещества. Феназепам включали в частицы в процессе синтеза, полученные НЧ покрывали полисорбатом-80 (ПС-80), обеспечивающим проникновение через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Подобным образом в настоящее время через ГЭБ транспортирован целый ряд препаратов после внутривенной инъекции ПБЦА НЧ, покрытых ПС-80. Среди них: лоперамид [5-7], тубокурарин [8], гексапептид даларгин [9], дипептид киотрофин [10], и антагонист рецептора NMDA MRZ 2/576 [11].

Размер измеряли методом лазерного светорассеяния на анализаторе субмикронных частиц Coulter N4 MD. В результате получены частицы со средним размером 215 ± 15 нм.

Исследования проводили на белых беспородных мышцах-самцах, массой 20-22 г. Животных содержали при температуре 20-22°C, в клетках по 15 особей, со свободным доступом к пище и воде. В методиках использовали группы по 12 животных. Препарат вводили интрагастрально при помощи специальной канюли. В качестве препарата сравнения использовали субстанцию феназепама в идентичной дозировке, отрицательным контролем служил изотонический раствор NaCl.

Седативную активность изучали при помощи тест-методики «открытое поле» [12]. Животных помещали в центр установки, наблюдение проводили в течение 1 мин. Фиксировали число пересеченных квадратов, число вертикальных стоек, число обследованных отверстий (норок), траекторию перемещения животного (перемещение вдоль стен, либо по центру). Группы формировали с учетом контрольного пробега животных («до введения») таким образом, чтобы между средними значениями пробега в группах не было статистически значимой разницы. Группа №1 – контроль 0,9% раствор NaCl, группа №2 – субстанция феназепама, группа №3 – феназепам в наночастицах.

Для грызунов характерна естественная боязнь открытых пространств, проявляющаяся в преимущественном перемещении по периметру установки «открытое поле». Полу-

ченные данные трактовались по следующему принципу: уменьшение числа перемещений свидетельствовало о наличии седативного действия препарата, изменение траектории движения животных в сторону увеличения перемещений через центр установки – о тенденции к антифобическому действию.

Миорелаксацию оценивали следующим образом: животное подвешивали на планку за передние лапы, таким образом, чтобы нижняя часть туловища находилась в свободно подвешенном состоянии, не касаясь поверхности, а само животное могло за счет мышечного усилия забраться на планку. Наблюдение проводили в течение 15 секунд. Мыши без миорелаксирующего эффекта или со слабовыраженным эффектом без труда забирались на планку, либо висели указанное время. Животные миорелаксирующим эффектом падали с планки до истечения контрольного интервала (15 секунд).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В тесте «открытое поле» было показано, что у животных, получавших ФЗ-НЧ в дозировке 3 мг/кг отсутствует значимое отличие от контрольной группы в течение первых 2 часов просмотра (Рис.1). Так, средний пробег по открытому полю составлял от $26,3 \pm 1,76$ для ФЗ-НЧ и $22,4 \pm 2,68$ для контроля при первом просмотре до $10,4 \pm 2,43$ и $12 \pm 1,19$ при просмотре через 4 часа после введения препарата. При этом статистически значимое различие в пробеге у данных групп наблюдалось только через 3 часа после введения препарата, значения пробега составляли $15 \pm 1,38$ для группы-контроля и $10,4 \pm 2,86$ для ФЗ-НЧ. Таким образом, можно говорить о наличии слабо выраженного седативного эффекта у наносомального феназепама к 3 часу наблюдений. Разживиной и соавт. [2] показано, что наночастицы с феназепамом в дозе 1 мг/кг не оказывают седативного действие, тогда как субстанция обладает данным эффектом.

Общее снижение двигательной активности у животных контрольной группы может быть объяснено привыканием к установке и потерей интереса к исследовательской деятельности.

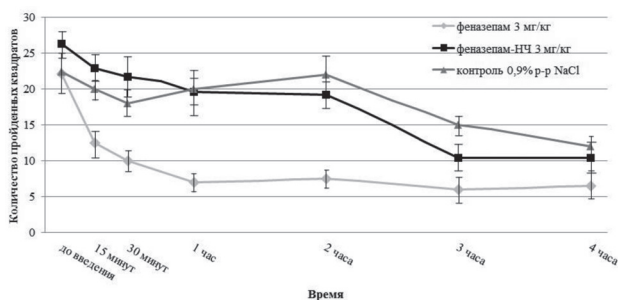


Рис. 1. Седативный эффект наносомального феназепам и феназепам-субстанции в дозировке 3 мг/кг

Субстанция ФЗ в идентичной дозировке показала выраженное седативное действие уже через 15 минут после введения. Величина пробега снизилась с $22,11 \pm 2,79$ до $12,5 \pm 2,23$, что в 1,83 раза ниже аналогичного показателя у ФЗ-НЧ.

Траектория движения животных контрольной группы по установке «открытое поле» проходила преимущественно по границе установки, рядом со стенками. Животные избегали длительного нахождения на открытом пространстве, что обуславливается естественной реакцией грызунов. Вместе с тем, у групп ФЗ и ФЗ-НЧ отмечено изменение траектории движения в сторону более частого перемещения через центр установки, что может говорить о тенденции к антифобическому действию и согласуется с данными Разживиной В.А. и соавт [2].

При оценке миорелаксирующего действия (Рис. 2) было показано существенное различие эффектов у животных. Так, у феназепам-субстанции в дозировке 3 мг/кг миорелаксирующее действие было зарегистрировано через 15 минут после введения у 25% животных, а наибольшее количество эффектов зарегистрировано через 30 минут после введения препарата и составляло 33,33% (4 животных из 12). При последующих просмотрах число животных с миорелаксацией сокращалось и к 3-му часу наблюдалось лишь у одного животного (8,33%). К 4-му часу эксперимента у вышеуказанной особи также был миорелаксирующий эффект, что может объясняться индивидуальной чувствительностью к препарату.

В то же время, миорелаксирующий эффект ФЗ-НЧ в дозировке 3 мг/кг проявил-

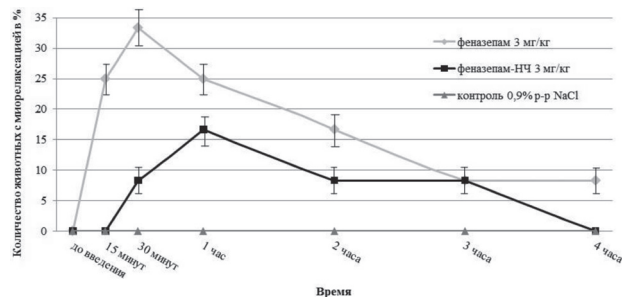


Рис. 2. Миорелаксирующий эффект наносомального феназепам и феназепам-субстанции в дозировке 3 мг/кг

ся только через 30 минут после введения у 8,33% животных, достиг пика к 1-му часу наблюдений – 16,33% (2 животных), после чего количество животных с миорелаксацией стало снижаться. К 3-му часу количество животных с эффектом сравнялось в обеих группах, а к 4-му часу миорелаксирующий эффект у ФЗ-НЧ отсутствовал. Исследование данного эффекта при дозе ФЗ-НЧ 1 мг/кг показало практически полное отсутствие миорелаксирующего действия [2].

Полученные данные свидетельствуют о снижении выраженности седативного и миорелаксирующего действия у ФЗ-НЧ в дозировке 3 мг/кг относительно ФЗ-субстанции.

При увеличении дозы препаратов до 5 мг/кг (Рис. 3), у ФЗ-НЧ показано развитие седативного и миорелаксирующего эффектов.

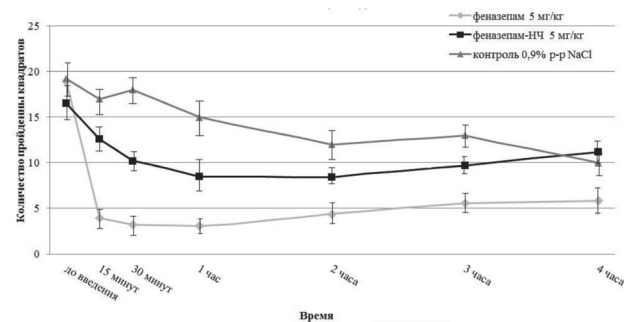


Рис. 3. Седативный эффект наносомального феназепам и феназепам-субстанции в дозировке 5 мг/кг

Значения пробега у животных группы с ФЗ-НЧ через 15 минут после введения препарата было в 4,17 раза выше чем у ФЗ-субстанции и составляло $16,5 \pm 2,34$ против $3,95 \pm 1,04$. Дальнейшая оценка двигательной активности показала достоверную значимую разницу в величине пробега у животных. Так, к 4 часу наблюдений у группы, получавшей

ФЗ-НЧ было отмечено увеличение двигательной активности до $11,2 \pm 1,29$. Данное значение близко к величине пробега в группе контроля $10 \pm 1,47$, что свидетельствует о снижении седативного действия у ФЗ-НЧ к 4 часу после приема.

Выраженность эффектов миорелаксирующего действия при введении экспериментальным животным ФЗ-субстанции и ФЗ-НЧ в дозе 5 мг/кг различна. Субстанция феназепама через 15 минут после введения вызвала миорелаксацию у 75% животных из группы, а через 30 минут эффект проявлялся у 91,67% животных (11 мышей из 12). Далее количество животных с эффектом снижалось и к 4-му часу составило 8,33%.

Действие ФЗ-НЧ начинает проявляться спустя 15 минут после введения, однако максимальный эффект достигался к 1-му часу, проявляясь у 50% подопытных животных. В течение 2 часов происходило постепенное снижение количества животных с миорелаксацией, составив к 3-му часу число наблюдений 33,33% с последующим их снижением до 8,33%. Следует отметить, что максимальное количество животных с миорелаксацией у ФЗ-НЧ в 1,83 раза ниже, чем у ФЗ-субстанции.

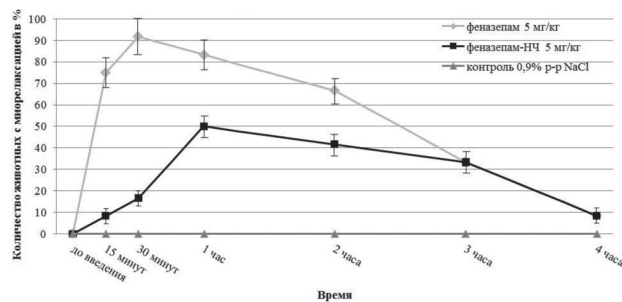


Рис. 4. Миорелаксирующий эффект наносомального феназепама и феназепама-субстанции в дозировке 5 мг/кг

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Феназепам в наночастицах в дозе 5 мг/кг оказывает седативное и миорелаксирующее действие, однако степень выраженности данных нежелательных эффектов значительно меньше, чем у субстанции феназепама.

При сопоставлении полученных данных в дозах 3 и 5 мг/кг следует отметить более медленное развитие миорелаксирующего эффекта у ФЗ-НЧ в сравнении с ФЗ-субстанции, а

сам эффект проявляется у значительно меньшего количества подопытных животных.

Результаты проведенных исследований показывают, что создание наносомальных лекарственных форм позволяет повышать безопасность применения препаратов в высоких дозах за счет снижения выраженности побочных эффектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Середенин С.Б. Феназепам. 25 лет в медицинской практике / С.Б. Середенин [и др.]. — М.: Наука, 2007 — 382 с.
2. Разживина В.А. Изучение эффектов феназепама, сорбированного на наночастицах / В.А. Разживина [и др.]. //Фармация. — 2008. — № 3. — С. 44-46.
3. Шипуло Е.В. Получение и исследование наносомальной формы моксифлоксацина на основе полибутилцианоакрилата / Е.В. Шипуло //Химико-фармацевтический журнал. — 2008. — Т. 42, № 3. — С. 43-47.
4. Kreuter J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs / J. Kreuter // Adv. Drug Deliv. Rev. — 2001. — Vol. 47. — P. 65-81.
5. Alyautdin R.N. Delivery of loperamide across the bloodbrain barrier with polysorbate 80-coated polybutylcyanoacrylate nanoparticles / R.N. Alyautdin [et al.] //Pharm. Res. — 1997. — Vol. 14. — P. 325-328.
6. Kreuter J. Covalent attachment of apolipoprotein AI and apolipoprotein B-100 to albumin nanoparticles enables drug transport into the brain / J. Kreuter [et al.] //J. Controlled Rel. — 2007. — Vol. 118. — P. 54-58.
7. Michaelis K. Covalent linkage of apolipoprotein E to albumin-nanoparticles strongly enhances drug transport into the brain / K. Michaelis [et al.] //J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2006. — Vol. 317. — P. 1246-1253.
8. Alyautdin R.N. / Significant entry of tubocurarine into the brain of rats by absorption to polysorbate 80-coated polybutylcyanoacrylate nanoparticles: an in situ brain perfusion study / R.N. Alyautdin [et al.] //J. Microencapsul. — 1998. Vol. — 15. — P. 67-74.
9. Kreuter J. / Passage of peptides through the blood-brain barrier with colloidal polymer par-

ticles (nanoparticles) / J. Kreuter [et al.] //Brain Res. — 1995. — Vol. 674. — P. 171-174.

10. Schroeder U. Nanoparticle technology for delivery of drugs across the blood-brain barrier / U. Schroeder [et al.] //J. Pharm. Sci. — 1998. — Vol. 87. — P. 1305-1307.

11. Friese A. Increase of the duration of the anticonvulsive activity of a novel NMDA recep-

tor antagonist using poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles as a parenteral controlled release system / A. Friese //Eur. J. Pharm. Biopharm. — 2009. — Vol. 49. — P. 103-109.

Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических препаратов / Р.У. Хабриев. — М.: Медицина. 2005. — 827 с.

Тарасов Вадим Владимирович — ассистент кафедры фармацевтической технологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; e-mail: tarasov-v-v@mail.ru

Аляутдин Ренад Николаевич — профессор, фармаколог

Павлова Людмила Анатольевна — доцент, зав. лабораторией биологически активных соединений НИИ молекулярной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова;

Краснюк Иван Иванович — профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова;

Tarasov Vadim V. — Assistant Professor of pharmaceutical technology department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; e-mail: tarasov-v-v@mail.ru

Alyautdin Renad N. — Full Professor, pharmacologist;

Pavlova Lydmila A. — Associate Professor, head of bioactive compound laboratory Research Institute of pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University;

Krasnyuk Ivan I. — Full Professor, head of pharmaceutical technology department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University.