

УДК 678.06:615.45

E. O. БАТЫРБЕКОВ, Д. Ж. РАХИМБАЕВА,
К. Б. МУСАБЕКОВ, Б. А. ЖУБАНОВ

ПРОЛОНГИРОВАННОЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ЦИКЛОФОСФАМИДА ИЗ АЛЬГИНАТНЫХ МИКРОЧАСТИЦ

Проведена иммобилизация противоопухолевого препарата циклофосфамида на микрочастицах геля альгината кальция. Исследована динамика высвобождения лекарственного вещества из полимерных микрочастиц. Показана возможность использования сферогелей альгината для создания систем с пролонгированным высвобождением циклофосфамида.

Одной из актуальных задач современной химии медико-биологических полимеров является разработка полимерных форм противоопухолевых препаратов. Современная химиотерапия рака требует применения высоких доз цитостатических препаратов, зачастую приводящая к токсическим явлениям. Существующий арсенал онкологических средств невелик и многие из них обладают малой продолжительностью противоопухолевого действия.

Пролонгированное и контролируемое введение противоопухолевых препаратов представляет большое значение при лечении раковых заболеваний. Основная задача противоопухолевой химиотерапии заключается в избирательном подавлении злокачественных клеток без повреждения здоровых тканей организма [1,2].

Одним из путей решения этой задачи является применение принципиально новых лекарственных форм в виде микрочастиц, полученных на основе высокомолекулярных соединений. Такие наноструктурированные препараты будут обладать не только продолжительным действием, но и позволят вводить противоопухолевые препараты в организм по заданной программе, причем в ряде случаев непосредственно в зону раковой клетки. Полимерные производные цитостатиков позволяют повысить терапевтический эффект за счет создания высоких локальных концентраций в зоне опухоли в течение длительного времени [3,4].

В качестве полимерной матрицы для создания терапевтических систем с контролируемым выделением действующего вещества широкое применение нашли природные полисахариды, в частности альгинаты [5,6]. Альгиновая кислота

имеет блочную структуру, состоящую из звеньев D-маннуроновой и L-гулуроновой кислот, находящихся в пиранозной форме и связанных между собой 1-4 гликозидными связями. В присутствии двухвалентных катионов альгинаты образуют гели, построенные из гулуроновой кислоты с участием катиона. Для альгината кальция показано, что зоны ассоциации имеют надмолекулярную структуру типа «яичной коробки», где каждый кation координирует с 10 кислородными атомами четырех остатков L-гулуроната [7].

Целью настоящей работы являлась разработка лекарственных форм противоопухолевого препарата циклофосфамида в форме микрочастиц на основе гелей альгината кальция, обладающих пролонгированным лечебным действием.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Альгиновую кислоту в виде натриевой соли (*Sodium salt from Macrocystic pyrifera*), средней вязкости производства «Sigma» (США), использовалась без дополнительной очистки. Противоопухолевый препарат циклофосфамид (Cytoxan® марки Bristol-Myers Squibb) – тетрагидро-N,N-бис(2-хлорэтил)-2Н-1,2,3-оксазафосфорин-2-амино-2-оксид использовали фармацевтической степени чистоты.

Микрочастицы на основе альгината кальция получали в соответствии со следующей схемой. В отфильтрованный раствор 2,0%-ого альгината натрия (20 мл) в дистиллированной воде добавляли раствор противоопухолевого препарата, капали через шприц под постоянным давлением воздуха в раствор хлорида кальция (100 мл) различной концентрации при скорости каплепадения 1,0 мл/мин. Полученные микрочастицы аль-

гината кальция быстро промывали раствором хлорида кальция в течение 5-10 мин и помещали для хранения в холодильник [8,9].

Для определения кинетики высвобождения циклофосфамида из альгинатных микрочастиц применяли специальное устройство, состоящее из металлической корзинки, термостатируемого стакана и механической мешалки. Выход препаратов изучали в условиях «*in vitro*». Для этого определенное количество микрочастиц помещали в металлическую корзинку, погруженную в 50 мл воды, раствора Рингера – Локка или физиологического раствора при комнатной температуре или при 37°C. Через определенные промежутки времени определяли содержание лекарства с помощью УФ-спектроскопии, которые регистрировали на спектрофотометре «Jasco UV/VIS 7580» (Япония) в кварцевой кювете с толщиной 10 мм.

Снимки электронной сканирующей микроскопии (СЭМ) альгинатных микрочастиц получали на электрозондовом микроанализаторе «Superprobe 733», снабженном энергодисперсионным спектрометром «INCA ENERGY». Порошок наносили на проводящую липкую ленту, покрывали его тонким слоем золота в установке «FINE COAT». Съемку осуществляли в режиме вторичных электронов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из путей повышения эффективности химиотерапии опухолей является иммобилизация противоопухолевых препаратов в структуру полимерной микрочастицы, избирательно поглощающей в ходе фагоцитоза злокачественными клетками, что позволяет создать высокую концентрацию препаратов в зоне раковой клетки в течение длительного времени. При этом сокращается число приемов препаратов и ликвидируется их токсическое влияние на здоровые клетки и ткани. В качестве материалов для изготовления микрочастиц широко используются гели на основе солей альгиновой кислоты.

Одним из эффективных противоопухолевых препаратов, широко используемых при лечении рака, является циклофосфамид. Однако наряду с многими положительными качествами циклофосфамида обладает кратковременным лечебным действием, что вызывает необходимость его частого введения. Поэтому в данной работе про-

ведены исследования по созданию полимерных терапевтических систем с пролонгированным высвобождением циклофосфамида.

Проведен комплекс исследований для выбора оптимальных условий получения микрочастиц на основе альгината кальция. Показано, что альгинатные частицы с оптимальным диаметром около 1,0 мм получаются при следующих условиях: исходный раствор альгината натрия 2%-ной концентрации, температура полного растворения 40°C, время растворения 1-1,5 ч, скорость каплепадения 1,0 мл/мин, концентрация CaCl_2 - 0,1 М. Полученные таким образом сферические микрочастицы имели средний диаметр $1,0 \pm 0,05$ мм, измеренный для 5 образцов.

На рисунке 1 представлена фотография СЭМ микрочастицы альгината кальция. Показано, что микрочастица имеет правильную сферическую форму диаметром 700-800 мкм. Поверхность микрочастиц имеет рыхлую волокнистую структуру в виде толстых фибрillлярных цепей.

Из литературных данных известно, что при образовании гелей альгината основную роль играют блоки гулуроновой кислоты, где каждый катион кальция координирует с 10 кислородными атомами четырех остатков L-гулуроната. При этом полимерная цепь приобретают своеобразную ячеисто-вытянутую форму, в которой каждая ячейка имеет определенную направленность атомов кислорода к ионам кальция, образуя конформационно-правильные хелатированные звенья, напоминающих «яйца в коробке». Схема координации иона кальция с блоками гулуроновой кислоты при образовании гелей альгината кальция представлена на рисунке 2.

В ИК-спектрах альгината натрия и кальция присутствуют ярко выраженные полосы в области 1690-1650 cm^{-1} , отнесенные к валентным колебаниям карбонильных групп. При этом для альгината кальция по сравнению с линейным альгинатом натрия наблюдается уменьшение интенсивности полос в области 1100-1200 cm^{-1} , характерных для простых эфирных групп, что свидетельствует об ассоциации гидроксильных групп при комплексообразовании. Полоса в области 3450-3500 cm^{-1} , характерная для ассоциированных гидроксильных групп, в альгинатных микрочастицах имеет более выраженный характер.

Одной из важнейших характеристик макромолекулярных терапевтических систем являет-

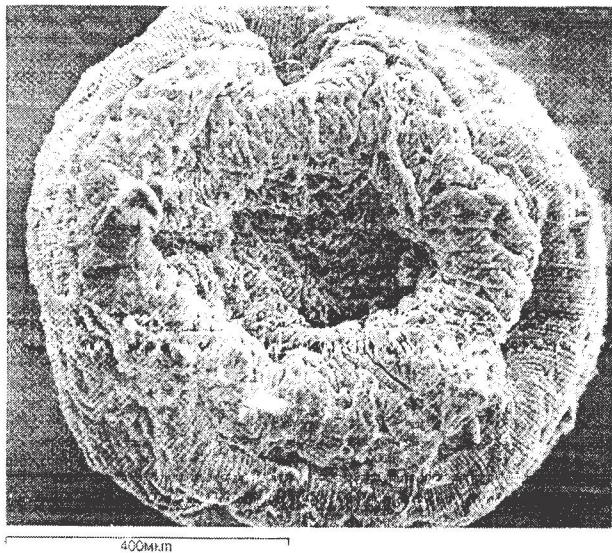


Рис. 1. СЭМ фото альгинатной микрочастицы, полученной из 0.1 М р-ра CaCl_2

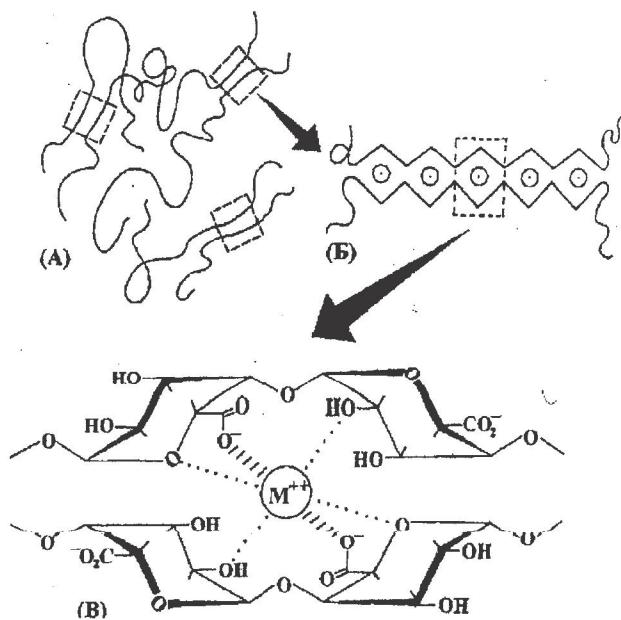


Рис. 2. Схема координации иона металла с блоками гулуроновой кислоты при образовании гелей альгината кальция («egg-box» модель).

А, Б - зоны контакта; В - элементарная ячейка зоны контакта.

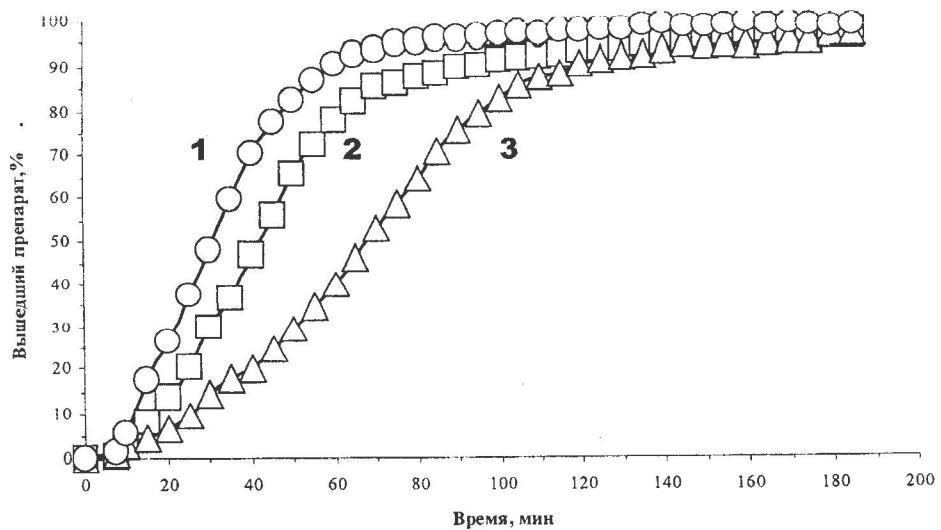


Рис. 3. Высвобождение циклофосфамида из альгинатных микрочастиц: набухшие (1), высушенные при 20° (2), 50° (3)

ся программа подачи лекарственного вещества в организм. Следует отметить, что в большинстве исследований скорость высвобождения определяют в экспериментах *in vitro*, поскольку в опытах *in vivo* на выход препарата влияет множество различных факторов, существенно затрудняющих адекватное описание механизма процесса. В настоящей работе исследовано влияние режима сушки на процесс высвобождения циклофосфамида из альгинатных микрочастиц в физиологический раствор в условиях *in vitro*.

Результаты опытов представлены на рисунке 3. Установлено, что наибольшая скорость выхода препарата наблюдается для набухших образцов, которые были испытаны непосредственно после их получения. Так, выход 50% препарата из набухших микрочастиц наблюдается за 15–18 мин, тогда как это же количество препарата из полностью высушенных образцов происходит за 30–35 мин. Полное высвобождение цитостатика на 90–95 % из набухших образцов происходит в течение 80–100 мин, а из высушенных образцов в течение 140–160 мин. Механизм высвобождения противоопухолевого препарата из сферических гелей альгината происходит согласно фикновской диффузии и прямо пропорционален корню квадратному от времени. Путем изменения режима сушки можно добиться регулируемой скорости высвобождения циклофосфамида из микрочастиц.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности использования микрочастиц альгината кальция для создания лекарственной формы циклофосфамида с регулируемой скоростью выделения противоопухолевого препарата.

ЛИТЕРАТУРА

- Newell D.R.* Recent advances and future trends in cancer chemotherapy // Paediatric oncology. London. 1995. P.508–530.
- Dorn K., Hoerpel G., Ringsdorf H.* Polymeric antitumor agents on a molecular and cellular level // Bioactive Polymeric Systems. An Overview. C. Gebelein, C. Cahhaher eds. NY. 1985. P. 531–585.

3. *Русаков И.Г., Щитков К.Г., Ли А.Д., Волохов А.Б.* Перспективы применения макромолекулярных терапевтических систем в онкологии // Полимеры медицинского назначения. Под ред. Н. А. Платэ. М. 1988. С. 174–184.

4. *Жубанов Б.А., Батырбеков Е.О., Исаков Р.М.* Полимерные материалы с лечебным действием. Алматы:Комплекс. 2000. 220 с.

5. *Dimitriu S.* Polysaccharides as Biomaterials // Polymeric Biomaterials. Second Edition. Ed. Dimitriu S. Marcel Dekker Inc.: N.Y. 2002. P.1–51.

6. *Исаков Р.М., Батырбеков Е.О., Жубанов Б.А.* Полимерные биоматериалы на основе альгинатов // Химический журнал Казахстана. 2004. №3. С.23–41.

7. *Sime W.J.* Alginates // Food Gels. Ed. Harris P. Elsevier: London. 1989. P.53–79.

8. *Batyrbekov E.O., Isakov R.M., Zhubanov B.A., Berlin K.D.* Controlled delivery of analgetics from calcium alginate beads // Architecture and Application of Biomaterials and Biomolecular Materials. Symposium Proceedings. MRS. Warrendale, PA. USA. Vol.EXS 1.2004. P.413–416.

9. *Исаков Р.М., Батырбеков Е.О., Пралюк К.Д., Жубанов Б.А., Berlin D.K.* Микрочастицы геля альгината кальция для направленного анальгетического действия // Вестник «Тинбо», Узбекистан.2004. № 1.С.9–12

Резюме

Кальций альгинаты гелінің микроболшектеріне ісікке қарсы дәрі циклофосфамид препаратын иммобилизациялау жүргізілді. Полимерлі микроболшектерден дөрілік препараттарының босатылу динамикасы зерттелген. Альгинат сферогельдерін циклофосфамидтің ұзак өсерлі босау жүйесін жасауға қолдану мүмкіндігі көрсетілген.

Resume

The immobilization of anticancer drug cyclophosphamide on the microparticles of calcium alginate gel has been carried out. The dynamic of drug release from polymeric microparticles was investigated. The possibility of the use of alginate spheregels for the development of polymeric drug delivery systems with prolonged release of cyclophosphamide was shown.

Институт химических наук им. А. Б. Бектурова МОН РК,
г. Алматы

Казахский Национальный
университет им. аль-Фараби,
г. Алматы

Поступила 02.06.09