

УДК 615.45;615.21/26

Влияние наноаэрозольной формы лекарственных препаратов на их базовую активность

С. В. АНЬКОВ¹, Т. Г. ТОЛСТИКОВА¹, М. В. ХВОСТОВ¹, А. А. ОНИЩУК², А. М. БАКЛАНОВ², В. В. БОЛДЫРЕВ³¹Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН, проспект Академика Лаврентьева, 9, Новосибирск 630090 (Россия)

E-mail: tg_tolstikova@mail.ru

²Институт химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского Сибирского отделения РАН, ул. Институтская, 3, Новосибирск 630090 (Россия)

E-mail: onischuk@kinetics.nsc.ru

³Научно-образовательный центр “Молекулярный дизайн и экологически безопасные технологии” при Новосибирском национальном исследовательском государственном университете, ул. Пирогова, 2, Новосибирск 630090 (Россия)

E-mail: boldyrev@solid.nsc.ru

(Поступила 25.03.14)

Аннотация

Исследован фармакологический эффект наноаэрозольной формы диклофенака, ибупрофена, кофеина и барбитала *in vivo*. Установлено, что такой способ доставки позволяет существенно снизить дозу, не только сохраняя базовую активность, но и повысив ее.

Ключевые слова: наноаэрозоли, диклофенак, ибупрофен, кофеин, барбитал

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время аэрозольная терапия широко применяется для лечения ряда заболеваний верхних дыхательных путей [1]. Известны различные устройства для создания аэрозолей, такие как небулайзеры, ингаляторы, порошковые турбухаллеры. Принципы получения аэрозоля разнятся, но диапазон размеров продуцируемых ими частиц всегда равен 0.5–5 мкм. Частицы такого размера не могут достигать альвеолярной области легких [2], поэтому их действие ограничивается бронхолегочным древом. В этой связи актуальна разработка способов, обеспечивающих с помощью аэрозоля доставку лекарственных средств, которые воздействуют на другие органы и системы организма. Для достиже-

ния этой цели необходимо создание устройств, способных продуцировать аэрозольные частицы нанометрового диапазона. Этот способ доставки имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными пероральными и внутривенными методами: неинвазивность, быстрое проникновение лекарственного средства в кровь, отсутствие эффекта первого прохождения через печень и влияния со стороны ЖКТ на фармакокинетику доставляемого вещества. Более того, в случае наноаэрозольной формы доставки снимается такое важное ограничение, как растворимость в воде. Именно оно является огромным препятствием для многих современных лекарств [2].

В Институте химической кинетики и горения СО РАН (ИХКиГ, Новосибирск) разработана установка, позволяющая получать

сухой аэрозоль методом нуклеации с размером частиц в нанометровом диапазоне [3]. С ее использованием получен наноаэрозоль индометацина. При оценке фармакологического действия в эксперименте на животных обнаружено, что его эффективная доза существенно меньше по сравнению с пероральным введением [3].

Для расширения перечня лекарственных средств, которые могут быть доставлены в организм описанным методом, мы провели аналогичные эксперименты с использованием других нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) – ибупрофеном и диклофенаком, а также изучили основные фармакологические свойства препаратов, влияющих на центральную нервную систему (ЦНС), – кофеина и барбитала. Все выбранные лекарственные средства входят в перечень жизненно важных препаратов РФ. Таким образом, улучшение их токсико-фармакологических характеристик должно положительно отразиться на социально-экономическом аспекте их применения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили на базе ИХКиГ СО РАН в лаборатории наночастиц. Наноаэрозоль получен методом нуклеации согласно [3, 4].

Все опыты по изучению наноаэрозольных форм лекарственных препаратов проводили на половозрелых беспородных мышах массой 25–30 г, полученных из вивария Института цитологии и генетики СО РАН и содержащихся

в стандартных условиях вивария на обычном пищевом и водном рационе. Манипуляции с животными осуществляли в строгом соответствии с законодательством РФ, положениями “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1986 г.).

В каждой серии экспериментов животных делили на две группы – контрольную и опытную, по восемь особей в каждой.

Противовоспалительную активность оценивали на модели гистаминового воспаления, для воспроизведения которого животным в апоневроз задней лапы вводили гистамин (0.05 мл) в концентрации 0.01 % [5]. Через 1 ч после введения животные подвергались воздействию противовоспалительного препарата в виде наноаэрозоля. Через 5 ч после этого животных умерщвляли методом дислокации шейных позвонков под легким наркозом.

Референсную группу составляли животные, которым вводили диклофенак в дозе 20 мг/кг или ибупрофен в дозе 80 мг/кг, внутрижелудочно однократно. Животных контрольной группы помещали на 20 мин в камеру, через которую пропускали поток чистого воздуха. В опытной группе (аэрозоль) животных помещали на 20 мин в камеру, через которую пропускали аэрозоль диклофенака или ибупрофена в дозе $8.3 \cdot 10^{-4}$ или $2.4 \cdot 10^{-3}$ мг/кг соответственно.

Оценку противовоспалительной активности проводили по индексу воспаления, который определяется по формуле: $(A - B)/A$, где A – масса здоровой лапы, B – масса лапы с индуцированным воспалением. Данные по-

ТАБЛИЦА 1

Противовоспалительный эффект диклофенака

Группы	Индекс отека		Противовоспалительная активность, %
	Среднее	% относительно контроля	
Контроль	27.3±1.4*	100	0
Диклофенак перорально, $2 \cdot 10^{-3}$ мг/кг	28.8±1.0**	105.5	-5
То же, 20.0 мг/кг	22.0±1.6*	80.6	20
Контроль (в камере с чистым воздухом)	19.0±1.9	100	0
Аэрозоль диклофенака, $8.3 \cdot 10^{-4}$ мг/кг, размер частиц 15 нм	9.9±1.2***	52.1	47.9

* $p < 0.05$.

** $p < 0.001$.

*** $p < 0.0001$ (по сравнению с контролем).

ТАБЛИЦА 2

Противовоспалительный эффект ибупрофена

Группы	Индекс отека		Противовоспалительная активность, %
	Среднее	% относительно контроля	
Контроль	39.87±2.62	100	0
Ибупрофен, 80 мг/кг перорально	17.45±1.2	44	56*
Контроль (в камере с чистым воздухом)	17.9±1.2	100	0
Аэрозоль ибупрофена, 2.4 · 10 ⁻³ мг/кг, размер частиц 80 нм	8.2±1.2	45.8	54.2**

* $p < 0.05$.** $p < 0.001$ (по сравнению с контролем).

казатели сравнивали с контрольной группой (не получавшей противовоспалительных агентов) и вычисляли величину противовоспалительного эффекта (в процентах) [6].

Для изучения анальгетической активности наноаэрозольной формы диклофенака и ибупрофена использовали стандартную модель: тест висцеральной боли “уксусные корчи” (УК). Ее вызывали внутрибрюшинным введением уксусной кислоты (0.75 %, по 0.1 мл/мышь), болевую реакцию оценивали по количеству корчей с пятой по восьмую минуту после введения уксусной кислоты. Процент угнетения болевой реакции (УБР) рассчитывали по формуле: $100 \% \cdot (X - Y)/X$, где X – среднее количество судорог в контрольной группе; Y – среднее количество судорог в тестируемой группе [6].

Стимулирующую активность кофеина в виде наноаэрозоля исследовали на модели хлоралгидратового сна. Животным внутрибрюшинно вводили снотворный препарат хлоралгидрат в дозе 325 мг/кг. После наступления

сна мышей помещали в камеру с нано-аэрозолем кофеина на 20 мин и фиксировали время пробуждения по сравнению с контрольной группой. По аналогичной модели исследовали снотворную активность барбитала.

Статистическая обработка результатов проведена с помощью программного пакета Statistica 7.0, результаты представлены как среднее (M)±стандартная ошибка среднего (SE). Достоверность определяли по t -критерию Стьюдента. Результаты считали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что наноаэрозоль диклофенака на модели гистаминового воспаления в наноаэрозольной форме в дозе $8.3 \cdot 10^{-4}$ мг/кг и размером частиц 60–120 нм проявил противовоспалительную активность, которая превосходит эффект референсной (диклофенак, 20 и 0.002 мг/кг внутрижелудочно) группы (табл. 1).

ТАБЛИЦА 3

Анальгетический эффект диклофенака

Группы	УК		Анальгетический эффект, %
	Количество актов	% актов	
Контроль	11.5±1.9	100	0
Диклофенак, 10 мг/кг внутрижелудочно	4.6±1.1**	40	60
Аэрозоль диклофенака, 6.4 · 10 ⁻³ мг/кг, размер частиц 23.6 нм	4.7±1.6*	41	59

* $p < 0.05$.** $p < 0.001$ (по сравнению с контролем).

ТАБЛИЦА 4

Стимулирующее влияние кофеина на фоне хлоралгидратового сна

Препараты	Время наступления сна, мин	Продолжительность сна, мин
Контроль (хлоралгидрат)	5.71±0.36	39.7±0.71
Контроль (хлоралгидрат + воздух)	4.5±0.11	38.5±18.5
Хлоралгидрат, кофеин, 15 мг/кг внутривбрюшинно	6.33±0.24	16.22±1.22*
Хлоралгидрат, аэрозоль кофеина, $2 \cdot 10^{-3}$ мг/кг, размер частиц 140 нм	4.0±0.11	21.0±1.0**

* $p < 0.05$.** $p < 0.001$ (по сравнению с контролем).

Таким образом, введение животным диклофенака в наноаэрозольной форме позволило существенно (на три порядка) снизить дозу по сравнению с референсным препаратом, введенным в пероральной форме.

Результаты изучения противовоспалительной активности наноаэрозольной формы ибупрофена представлены в табл. 2. Видно, что введение животным ибупрофена в наноаэрозольной форме также существенно уменьшило дозу по сравнению с референсным препаратом, введенным внутривбрюшинно.

Анальгетический эффект диклофенака и ибупрофена изучали на модели УК (табл. 3). Обнаружено, что диклофенак в наноаэрозольной форме в дозе $6.4 \cdot 10^{-8}$ мг/кг проявил анальгетическую активность, сопоставимую с референсной группой (10 мг/кг перорально).

Введение животным диклофенака в наноаэрозольной форме обеспечило существенное снижение дозы по сравнению с референсным препаратом, который доставлялся перорально. Ранее на модели УК мы изучали анальгетическую активность наноаэрозольной формы ибупрофена. Оказалось, что в дозе $6.4 \cdot 10^{-8}$ мг/кг

с размером частиц 68.1 нм анальгетическая активность сопоставима с референсной группой (80 мг/кг ибупрофена внутривбрюшинно) [7, 8].

При изучении эффекта наноаэрозольной формы кофеина – стимулятора центральной нервной системы (ЦНС) – критерием оценки служило уменьшение времени снотворного эффекта у мышей на фоне препарата хлоралгидрата [6]. Результаты эксперимента представлены в табл. 4.

Наилучший результат установлен для наноаэрозольной формы кофеина в дозе $2 \cdot 10^{-3}$ мг/кг с размером частиц 140 нм после его экспозиции в течение 20 мин. По сравнению с контрольными группами продолжительность сна снизилась в среднем на 47 %. Следовательно, кофеин в наноаэрозольной форме проявляет базовую активность в дозе, которая на несколько порядков ниже парентеральной.

Не менее интересным объектом исследований стал снотворный препарат центрального действия – барбитал. Целью этой серии экспериментов было изучение базовой активности барбитала при аэрозольном способе доставки. После 20 мин экспозиции в камере с

ТАБЛИЦА 5

Стимулирующее влияние барбитала при пробуждении от хлоралгидратового сна

Препараты	Время наступления сна, мин	Продолжительность сна, мин
Контроль (хлоралгидрат)	8±1.81	39.7±1.74
Контроль (хлоралгидрат + воздух)	5.88±0.83	25.0±0.01**
Хлоралгидрат, барбитал, внутривбрюшинно, $2.4 \cdot 10^{-3}$ мг/кг	5.71±0.6	25.86±1.5**
Хлоралгидрат, аэрозоль барбитала, $2.4 \cdot 10^{-3}$ мг/кг	9.0±0.01	<20

* $p < 0.05$.** $p < 0.001$ (по сравнению с контролем).

наноаэрозолем барбитала не наблюдалось сонливости и седативного эффекта. Для подтверждения наблюдений провели эксперимент, аналогичный описанному выше для кофеина (табл. 5). Выявлено, что барбитал в виде наноаэрозольной формы в дозе $2.4 \cdot 10^{-3}$ мг/кг сократил продолжительность снотворного действия препарата хлоралгидрата на 50 %, проявив антагонизм к снотворному эффекту.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно заключить, что наноаэрозольный способ доставки позволил: 1) уменьшить на несколько порядков эффективную противоспалительную и анальгетическую дозу ибупрофена и диклофенака; 2) снизить эффективную дозу стимулятора ЦНС кофеина по сравнению с парентеральным способом введения; 3) принципиально изменить базовую активность снотворного препарата барбитала.

Работа выполнена при финансовой поддержке Междисциплинарного интеграционного проекта СО

РАН (№ 108 “Нетрадиционные способы введения веществ в организм и физические методы модифицирования их свойств”).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Hickey A. J. (Ed.) *Pharmaceutical Inhalation Aerosol Technology*. UK: Informa Health Care, 2004.
- 2 Laube B. L. // *Resperatory Care*. 2005. Vol. 50. P. 1161–1176.
- 3 Tolstikova T. G. *Aerosols Handbook Measurement, Dosimetry and Health Effects* / Ed. by L. S. Ruser and N. H. Harley. London–NY: CRC Press, Taylor&Francis group, 2012. Chapt. 11. P. 249.
- 4 Onischuk A. A. // *J. Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*. 2009. Vol. 22, No. 3. P. 245–253.
- 5 Миронов А. Н. *Руководство по проведению доклинических исследований*. М.: ФГБУ “НЦЭСМП” Минздрава России, 2013.
- 6 Хабриев Р. У. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. М.: Медицина, 2005.
- 7 Толстикова Т. Г. // Тез. докл. XXI межд. конф. и дискуссионный научный клуб “Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии”. Украина, Крым, 2013. С. 145–146.
- 8 Khvostov M. V. // 5th World Conf. “Drug Absorption, Transport and Delivery” (WCDATD), Sweden, Uppsala, 2013. P. 75.