

Контейнеры интраназальной доставки золпидама в мозг, модифицированные магнитными наночастицами

К.С. Красулина^{1,3}, М.С. Милёхин², М.А.Ванцян³, Т.В. Букреева^{2,3}

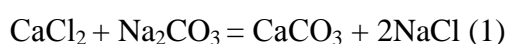
¹Московский физико-технический институт (государственный университет), Факультет нано-, био-, информационных и когнитивных технологий

²Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН

³НИЦ «Курчатовский институт»

Важными преимуществами интраназального способа введения лекарственных веществ являются удобство и легкость применения, быстрое действие, отсутствие эффекта первого прохождения через печень и связанных с этим неблагоприятных реакций, а также возможность доставки в центральную нервную систему, минуя гематоэнцефалический барьер [1-2].

В качестве контейнеров интраназальной доставки в мозг было предложено использовать микрочастицы карбоната кальция в модификации ватерита, покрытые полимерной оболочкой [3]. Биосовместимость микрочастиц ватерита, их сферическая форма, пористость и возможность биодegradации дают преимущества для применения в качестве ядер – основы контейнеров. Сферические микрочастицы карбоната кальция получают смешиванием растворов CaCl_2 и Na_2CO_3 . Частицы CaCO_3 образуются в результате реакции:



Аморфный осадок CaCO_3 , выпадающий при быстром смешивании растворов CaCl_2 и Na_2CO_3 , в результате коллоидной агрегации переходит в упорядоченные сферолиты микронного размера. На рис. 1. представлена микрофотография частиц карбоната кальция сделанная при помощи сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

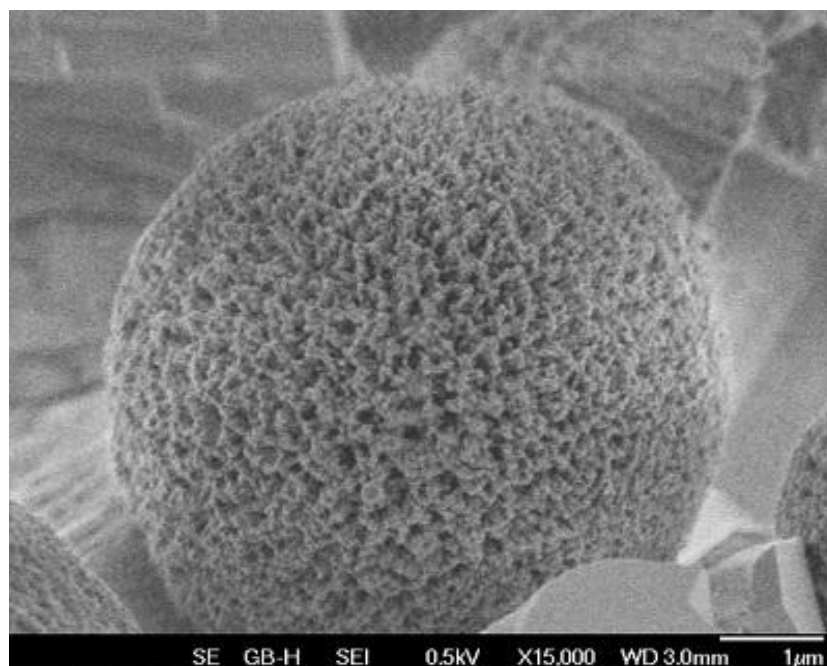


Рис. 1. СЭМ – изображение ядер карбоната кальция

Из изображения видно, что частицы карбоната кальция имеют сферическую форму и высокоразвитую поверхность. Размер получаемых частиц (ядер) карбоната кальция можно варьировать в большом диапазоне, от 500 нм до 10 мкм в зависимости от конкретных задач по применению данных объектов.

В данной работе были поставлены следующие задачи:

1. сформировать систему для интраназальной доставки на пористых частицах;
2. модифицировать ядра кальций карбоната магнитными наночастицами;
3. провести адсорбцию на ядра карбоната кальция лекарственного препарата – золпидема
4. добиться максимальной загрузки золпидемом и его минимальной десорбции в среду растворителя при хранении

Работа была разделена на три этапа. В водном растворе ядра карбоната кальция легко переходят из кристаллической фазы ватерита в кальцит. Первый этап работы заключался в подборе растворителя, уменьшающего степень перекристаллизации ядер до нанесения слоев из биополимеров. Для сравнения набор растворителей:

1. вода
2. смесь воды и глицерина в соотношении 1:1
3. смесь воды и диметилсульфоксида (ДМСО) в соотношении 1:1
4. водный раствор полиэтиленгликоля (с концентрацией 2 мг/мл).

Следует отметить, что кроме этого были проведены серии экспериментов с соотношениями растворителей 1:2, 1:4, 1:7, 1:9. Также было предложено использовать в

качестве растворителя трехкомпонентную смесь вода – глицерин – диметилсульфоксид. При сравнении воздействия различных растворителей была выбрана система «вода - глицерин» в соотношении 1:1, которая позволяет хранить ядра практически без изменения в течение 6 дней после проведения синтеза.

Следующий этап работы посвящен изучению процессов адсорбции и динамики высвобождения лекарственного препарата. В качестве лекарственного препарата использовали золпидем – снотворное последнего поколения (рис.2). Интраназальное введение золпидема позволит избежать недостатков прохождения через желудочно-кишечный тракт и повысить эффективность препарата.

На рис. 2. представлена структурная формула золпидема в виде тартрата, используемого в нашей работе.

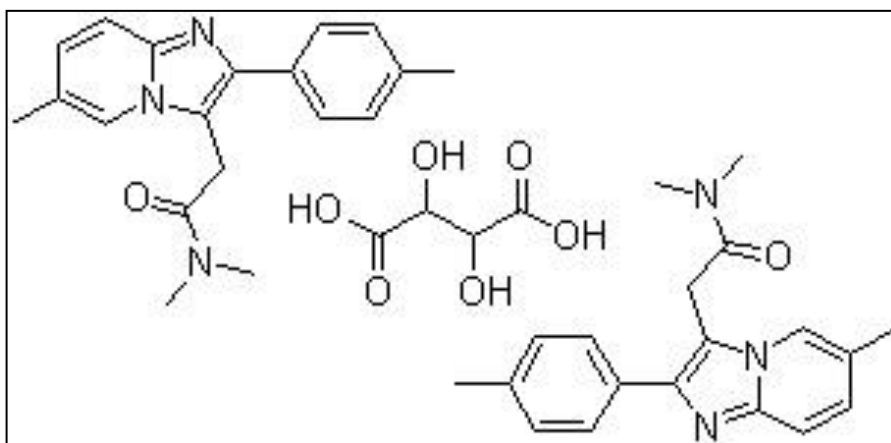
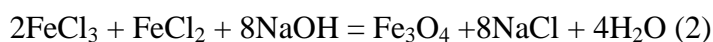
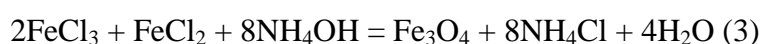


Рис. 2. Структурная формула золпидема

В качестве ядер использовали частицы карбоната кальция, полученные по методике [4], и частицы карбоната кальция, модифицированные магнитными наночастицами путем добавления готовой суспензии наночастиц непосредственно в реакционную среду в ходе синтеза ядер. Магнитные наночастицы были синтезированы методом химической конденсации [5]. В основе данного метода лежит реакция:



Замена гидроксида натрия (NaOH) на гидроксид аммония (NH₄OH) позволила создать более мягкие условия соосаждения солей, что способствовало образованию в ходе реакции осадка FeO·Fe₂O₃ с определённым соотношением оксидов:



Средний размер магнитных частиц, получаемых химической конденсацией составляет от 10 нм до 40 нм (и до 150 нм для агрегатов наночастиц).

В настоящей работе впервые проведена модификация контейнеров интраназальной доставки на основе частиц карбоната кальция магнитными наночастицами. Такие наночастицы в составе ядер могут быть использованы как метка для определения положения контейнеров в организме, например, методом МРТ.

Основной задачей следующего этапа работы было подобрать оптимальные условия для большей загрузки контейнеров, т.е. более эффективной адсорбции лекарственного вещества на поверхность ядер, и минимальной десорбции целевого соединения в растворитель при хранении. На рис. 3. представлена микрофотография ядер кальций карбоната массой 15 мг с адсорбированным на поверхность золпидемом с концентрацией 1 мг/мл в смеси вода - полиэтиленгликоль (10 мг/мл). Видно, что поверхность частицы стала более гладкой по сравнению с исходной (рис.1), что свидетельствует об эффективной адсорбции золпидема.

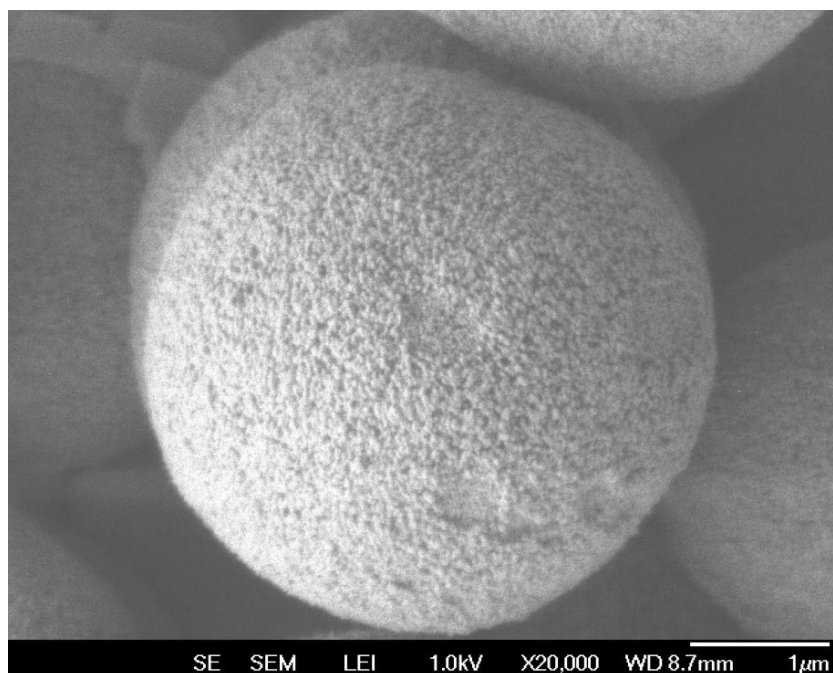


Рис. 3. СЭМ – изображение ядер карбоната кальция с золпидемом

Количественно загрузку контейнеров определяли по спектрам поглощения с использованием спектрофотометра Lambda 650. Для этого сначала были построены калибровочные прямые растворов золпидема по пику 296 нм в следующих смесях:

1. вода
2. вода – глицерин в соотношении 1 к 1
3. вода – полиэтиленгликоль с концентрацией 2 мг/мл

4. вода – полиэтиленгликоль с концентрацией 10 мг/мл
5. вода – глицерин в соотношении 1 к 1 с добавлением полиэтиленгликоля (0,4 мг/мл)
6. вода – глицерин в соотношении 1 к 1 с добавлением полиэтиленгликоля (2 мг/мл)
7. вода – глицерин в соотношении 1 к 1 с добавлением полиэтиленгликоля (4 мг/мл)

На рис. 4. представлена калибровочная прямая золпидема в смеси вода - полиэтиленгликоль (10 мг/мл).

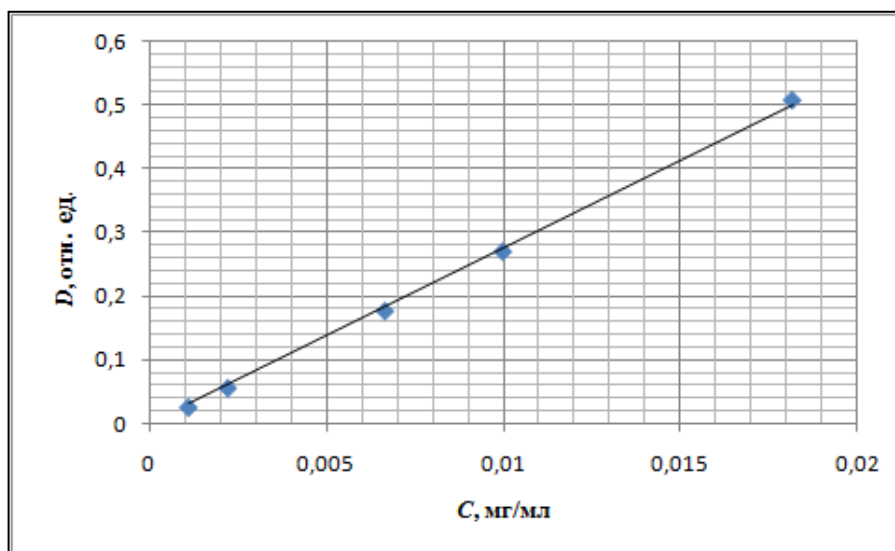


Рис. 4. Калибровочная прямая раствора золпидема в смеси вода - полиэтиленгликоль (10 мг/мл) по пику 296 нм

Калибровочная прямая строится с учетом базовой линии. Базовая линия снимается для каждого растворителя для того чтобы компенсировать значения от поглощения самого растворителя и фон, если он есть, а при съемке с веществом (с золпидемом) получать данные о самом веществе. На рис. 5 представлены базовые линии некоторых растворителей, используемых в работе.

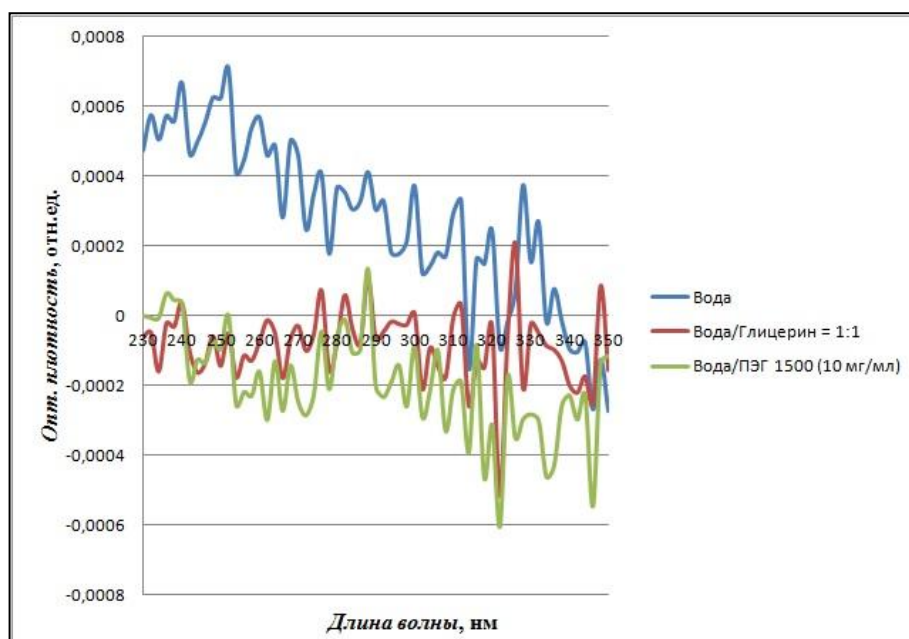


Рис. 5. Базовые линии растворителей

После адсорбции золпидема на ядра карбоната кальция осадок центрифугировали, отбирали супернатант (так называемый нулевой супернатант) и снимали его спектр поглощения. Затем частицы трижды промывали растворителем, также с использованием центрифуги и собирали общую пробу, называемую «супернатант-123». На рис. 6. представлен спектр поглощения раствора золпидема в системе «вода – полиэтиленгликоль (10 мг/мл).

Содержание золпидема на частицах CaCO_3 определяли по формуле

$$v = v_0 - v_1,$$

где v – количество адсорбированного золпидема, v_0 – количество золпидема, добавленного к частицам карбоната кальция, v_1 – количество золпидема в супернатантах (нулевой супернатант + супернатант 123) после адсорбции на ядра. v_1 определяли с использованием калибровочной прямой в соответствии с законом Бугера–Ламберта–Бера.

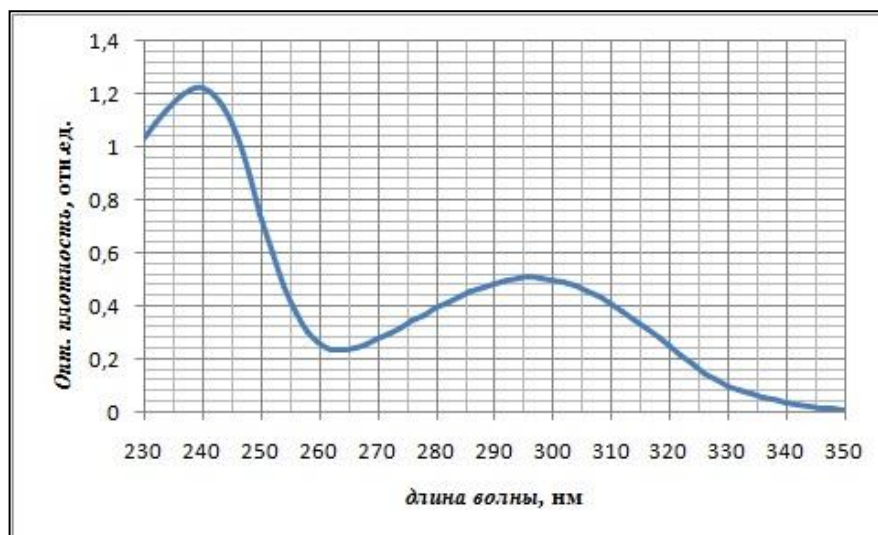


Рис.6. Спектр поглощения раствора золпидема в системе «вода – полиэтиленгликоль (10 мг/мл)»

Проведя расчеты, было показано, что максимальная загрузка золпидема получена в системе «вода - полиэтиленгликоль (10 мг/мл)» и составляет 3,9 %.

Также была изучена динамика высвобождения золпидема в смеси вода-глицерин в соотношении 1:1, показавшей наилучшие результаты для хранения, в интервале времени от 40 до 120 мин. По калибровочной прямой определяли количество золпидема, десорбирующегося с поверхности ядер в растворитель. Было установлено, что десорбция целевого вещества не превышает 22 % при объеме супернантанта 10 мл. На рис. 7 представлена зависимость десорбции золпидема от времени.

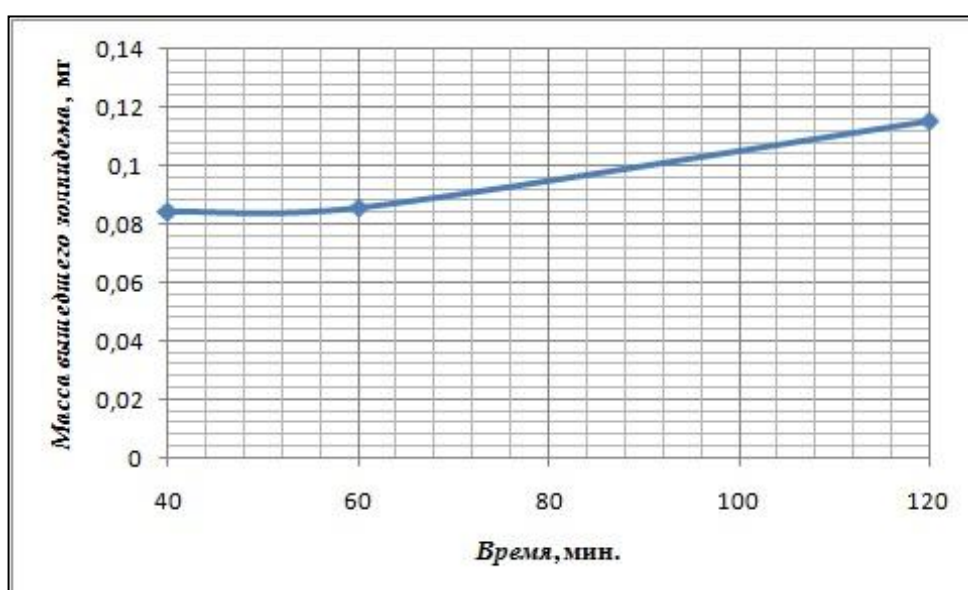


Рис. 7. Зависимость десорбции золпидема в смеси «вода-глицерин в соотношении 1:1» от времени.

В дальнейшем планируется формирование на поверхности контейнеров полимерных многослойных оболочек методом «layer-by-layer» для повышения устойчивости разработанных систем.

Литература

1. *Варнаховская И.П.* Лекарственные препараты для интраназального применения. – СПб.: Медлайн Экспресс, 2001. – № 15. – 16–19 с.
2. *Гуревич К.Г.* Разработка систем интраназальной доставки лекарственных средств. – М.: Качественная клиническая практика, 2002. – № 1. – 23–28 с.
3. *Букреева Т.В., Марченко И.В., Бородина Т.Н., Дегтев И.В., Ситников С.Л., Моисеева Ю.В., Гуляева Н.В., Ковальчук М.В.* Частицы карбоната кальция и диоксида титана как основа контейнеров для доставки соединений в мозг. – М.: ДАН, 2011. – Т. 440, № 2. – с. 191-194.
4. *Sukhorukov G.B., Volodkin D.V., Gunther A.M. [et al.]* Porous calcium carbonate microparticles as templates for encapsulation of bioactive compounds. – London: J. Mater. Chem., 2004. – V.14. – P. 2073-2081.
5. *Elmore W. C.* Ferromagnetic Colloid for Studying Magnetic Structures. – Phys. Rev., 1938. – V. 54. – P. 309-310.