

НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В СОЗДАНИИ ИННОВАЦИОННЫХ ПРОТИВОПАЗИТАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Варламова А. И. ^{1,2},

кандидат ветеринарных наук,

ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной терапии

arsphoeb@mail.ru

Архипов И. А. ¹,

доктор ветеринарных наук, профессор,

зав. лаборатории экспериментальной терапии

arkhipovhelm@mail.ru

Халиков С. С. ³,

доктор технических наук,

ведущий научный сотрудник лаборатории фторорганических соединений

salavatkhalikov@mail.ru

Аннотация

Представлен обзор и краткое описание новых направлений в получении и производстве инновационных противопаразитарных препаратов. Наиболее широкое распространение в последние десятилетия получила иммобилизация противопаразитарных препаратов на наночастицах или в них для повышения эффективности и снижения побочных эффектов лекарственных веществ за счет улучшения параметров адсорбции, биодоступности, замедленного высвобождения и показателей внутриклеточной проницаемости. В настоящее время для противопаразитарных препаратов в качестве адресной

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (117218, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28)

² ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» (109472, Россия, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23)

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (119991, Россия, ГСП-1, Москва, 119334, ул. Вавилова, 28)

доставки применяют такие наноносители как: липосомы, полимерные наночастицы, твердые липидные наночастицы, наносuspensions, нанокристаллы и пр. Исследования, проводимые в нашей стране, подтвердили эффективность механохимической технологии для получения твердых дисперсий некоторых антигельминтных препаратов (никлозамида, альбендазола, фенбендазола, триклабендазола, празиквантела и др.) с всмогательными веществами (арабиногалактаном, поливинилпирролидоном, глицирризиновой кислотой и пр.). На примере твердых липидных наночастиц (ТЛНЧ) показана возможность и перспективность их дальнейшего изучения и использования в качестве потенциальных средств адресной доставки противопаразитарных препаратов; указаны различные технологии их изготовления, включая методы гомогенизации, использования суперкритических жидкостей, метод сухого спрея, выпаривания, ультразвуковой обработки, двойной эмульсии и др.

Ключевые слова: наноносители, противопаразитарные препараты, твёрдые липидные наночастицы, адресная доставка, гомогенизация.

NEW DIRECTIONS IN THE CREATION OF INNOVATIVE ANTIPARASITIC DRUGS

Varlamova A. I. ^{1, 2},

Candidate of Veterinary Sciences,

Leading Researcher of the Laboratory of Experimental Therapy

arsphoeb@mail.ru

Arkhipov I. A. ¹,

Doctor of Veterinary Sciences, Professor,

Head of the Laboratory of Experimental Therapy

arkhipovhelm@mail.ru

Khalikov S. S. ³,

Doctor of Engineering Sciences,

Leading Researcher of the Laboratory of Organofluorine compounds

salavatkhalikov@mail.ru

¹ All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV" (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia)

² Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K.I. Skryabin (23, Academician Skryabin st., Moscow, 109472, Russia)

³ Institute of Organoelement Compounds of the Russian Academy of Sciences (28, Vavilova st., Moscow, 119334, Russia)

Abstract

A review of new directions in obtaining and manufacturing of innovative antiparasitic drugs is presented. The immobilization of antiparasitic drugs on or in nanoparticles to increase the efficacy and reduce side effects of drugs by improving the parameters of adsorption, bioavailability, slow release and intracellular permeability has been the most widespread direction in recent decades. Currently, such carriers as liposomes, polymer nanoparticles, solid lipid nanoparticles, nanosuspensions, nanocrystals, etc. are used as drug delivery systems for antiparasitic drugs. Studies conducted in our country have confirmed the efficacy of mechanochemical technology for producing solid dispersions of certain anthelmintic drugs (niclosamide, albendazole, fenbendazole, triclabendazole, praziquantel etc.) with excipients (arabinogalactan, polyvinylpyrrolidone, glycyrrhizic acid, etc.). On the example of solid lipid nanoparticles (SLN), the possibility and prospects of their further study and use as potential means of targeted delivery of antiparasitic drugs are shown, various manufacturing technologies are indicated, including homogenization methods, the use of supercritical fluids, the method of dry spray, evaporation, ultrasonic treatment, double emulsions, etc.

Keywords: nanocarriers, antiparasitic drugs, solid lipid nanoparticles, drug delivery systems, homogenization.

К особо опасным паразитарным болезням человека и животных относят гельминтозы, арахноэнтомозы и протозоозы, которые причиняют огромный экономический ущерб и представляют социальную опасность. В связи с этим разработка эффективных противопаразитарных препаратов остается актуальной проблемой современной науки [1].

Известные методы лечения паразитозов животных основаны на применении широкого ассортимента препаратов, многие из которых ввиду их плохой растворимости часто не обеспечивает необходимую эффективность.

С целью улучшения растворимости лекарственных веществ часто используют способы, основанные на образовании их молекулярных комплексов с водорастворимыми синтетическими и/или природными полимерами. Такой подход во многих случаях позволяет добиться снижения дозировок лекарственных веществ при сохранении терапевтической активности, а также снижения их токсичности.

Нашими исследованиями подтверждена возможность твердофазной механохимической технологии повышать растворимость плохо растворимых субстанций лекарственных веществ путём их совместной обработки с водорастворимыми полимерами в измельчителях-активаторах с регулируемой энергонапряженностью. Полученные при

этом препараты обладают не только повышенной растворимостью, но и высокой активностью при сниженных дозах препарата [2]. Эта технология имеет ряд преимуществ перед известными методами – полное исключение из процесса растворителей, одностадийность, экологическая безопасность, возможность масштабирования, гибкость технологии.

В последние годы предложено много различных методов использования наночастиц для целенаправленной доставки лекарственных веществ непосредственно к их месту действия. Разработаны различные типы наноносителей, такие как: наносуспензии, полимерные наночастицы, липосомы, твердые липидные наночастицы и пр. для альбендазола, празиквантела, триклабендазола, фенбендазола, фенасала, паромомицина и др., которые показали высокую антигельминтную эффективность в предварительных опытах [2–4, 12].

Наноносители могут состоять из натуральных или синтетических полимеров, твердых жиров, фосфолипидов и холестерина, размер частиц которых может колебаться от 10 до 1000 нм. Успешное использование наночастиц в качестве носителей лекарственных препаратов зависит от их способности проникать через анатомические барьеры за счет увеличения уровня адсорбции и внутриклеточной доставки лекарственных веществ; длительного времени циркуляции, хорошей биосовместимости, а также слабых токсикологических свойств или их отсутствия и оптимальных сроков выведения из организма животных. Выше перечисленные параметры обуславливают их уникальные свойства еще и благодаря большей удельной поверхности и сильным адгезивным свойствам [14]. Противопаразитарные препараты помещают в наноносители физическим или химическим путем посредством адсорбции, инкапсуляции и конъюгации. Терапевтическое действие препаратов реализуется при десорбции, растворении или разрушении комплексов.

Настоящий обзор описывает современное состояние и перспективы использования нанотехнологий при создании противопаразитарных препаратов, позволяет определить новые тенденции при разработке наноносителей для преодоления трудностей при терапии и профилактике паразитарных заболеваний.

Так, твердые липидные наночастицы (ТЛНЧ) являются альтернативой полимерным наночастицам, эмульсиям и липосомам, и представляют собой коллоидные носители. Xie et al., 2011, Pensel et al., 2015, Marstin et al., 2017 [8, 11, 15] сообщали о повышении растворимости,

увеличении скорости растворения, биодоступности, увеличении времени циркуляции и высокой антигельминтной эффективности противопаразитарных средств на основе ТЛНЧ. Сообщалось, что ТЛНЧ альбендазола, приготовленные с триглицеридами трикаприлина и каприлово-каприновой кислоты в соотношении 1:1, повышают биодоступность и показывают лучшую эффективность (кист обнаружено не было) по сравнению с суспензией альбендазола после перорального применения у мышей, зараженных *Echinococcus granulosus* [11, 13]. Heidari-Kharaji et al., 2016, Omwoyo et al., 2016 сообщили, что ТЛНЧ на основе паромомицина, артемизинина проявили хорошее терапевтическое действие в отношении внутриклеточных паразитов (*Plasmodium* и *Leishmania*) и увеличении эффективности дегельминтизации до 97,4% [6, 10].

Известно, что для создания ТЛНЧ используют твёрдые липиды, эмульгаторы и растворители. В качестве липидов используют триглицериды (три-стеарины), частичные глицериды, жирные кислоты (стеариновая, пальмитиновая кислоты), стероиды (холестерол) и воск. Для стабилизации липидных дисперсий и предотвращения агрегации частиц применяют различные эмульгаторы и их комбинации [9]. Преимуществом ТЛНЧ является то, что входящие в ее состав «физиологические» липиды способны снижать острую и хроническую токсичность самих препаратов. Выбор эмульгатора зависит от способа введения лекарственного препарата. Существуют различные методы приготовления ТЛНЧ [7].

Высокоскоростную гомогенизацию обычно используют для производства нанодисперсий твёрдых липидов и часто совмещают с процессами эмульгирования. Горячая гомогенизация проводится при температуре выше точки плавления жиров подобно гомогенизации эмульсий. Из-за понижения вязкости липидной фазы при высокой температуре часто получают небольшие размеры частиц, но при этом может происходить деградация препарата и носителя. Лучший продукт получается после 3–5 кратной гомогенизации при высоком давлении и высокой температуре.

Холодную гомогенизацию с твёрдыми липидами проводят аналогично измельчению суспензий при высоком давлении. Первый этап включает растворение или процесс дисперсии лекарственного вещества (ЛВ) в расплавленной жировой основе. Затем проводят быстрое охлаждение с использованием сухого льда или жидкого азота для гомогенного распределения ЛВ. Охлаждение способствует получению

частиц размером 50–100 мкм. ТЛНЧ диспергируют в охлажденном растворе эмульгатора и гомогенизируют при высоком давлении при контроле температурного режима. В отличие от горячей гомогенизации в этом методе получаются частицы большего размера и разной величины. Способ холодной гомогенизации минимизирует тепловое воздействие на образец, но не позволяет избежать расплавления липида/ЛВ на начальном этапе.

Ультразвуковую обработку используют для получения ТЛНЧ с применением общего лабораторного оборудования. Недостатком метода является получение частиц различного диаметра и возможность попадания металлочастиц.

Эмульгирование/испарение. Для производства дисперсий ТЛНЧ путем осаждения в маслосодержащих эмульсиях липофильную основу растворяют в несмешивающемся с водой органическом растворителе (циклогексане) и эмульгируют в водной фазе. При испарении растворителя образуется дисперсия ТЛНЧ в результате осаждения липидов в водной среде с размером частиц порядка 25 нм. Также для образования ТЛНЧ можно использовать метод микроэмульсий, основанный на их разведении по Gasco, 1993 [5].

В случае **использования суперкритических жидкостей** ТЛНЧ получают за счет быстрого введения суперкритического раствора диоксида углерода, который является лучшим растворителем для этого метода.

Метод сухого спрея является альтернативой лиофилизации с целью переноса водных дисперсий ТЛНЧ в препарат. Это более дешёвый метод, который вызывает частичную агрегацию вследствие высокой температуры и недостаточного измельчения частиц. Для него рекомендуется использовать липиды с температурой плавления более 70 °С. Лучшие результаты получены с ТЛНЧ в 1%-ном растворе трегалозы в воде или в 20%-ном тригалозе в смеси этанола/воды 10/90.

Метод двойной эмульсии для получения гидрофильных ТЛНЧ основан на испарении эмульгирующего растворителя. Препарат инкапсулируется со стабилизатором для предотвращения разделения лекарственного средства на водную фазу во время испарения растворителя во внешней водной фазе с двойной эмульсией.

Стоит отметить, что важными показателями для характеристики качества и структуры ТЛНЧ являются размер частиц, кинетика их распределения (дзета-потенциал), степень кристалличности, модификация липидов (полиморфизм), примеси дополнительных коллоидных

структур (мицелл, липосом, наночастиц и др.), время распределения, содержание препарата, выделение препарата *in vitro*, морфология его поверхности, которые можно оценить методом фотонной корреляционной спектроскопии, трансмиссивной электронной микроскопии, сканирующей электронной микроскопии и др.

Таким образом, на примере ТЛНЧ и других носителей показана возможность и перспективность их дальнейшего изучения и использования в качестве средств адресной доставки противопаразитарных препаратов.

Литература

1. *Архипов И.А.* Антигельминтики: фармакология и применение. М.: РАСХН, 2009. 406 с.
2. *Варламова А.И., Лимова Ю.В., Садов К.М., Садова А.К.* и др. Эффективность супрамолекулярного комплекса фенбендазола при нематодозах овец // Российский паразитологический журнал. 2016. Т. 35. Вып. 1. С. 76–81.
3. *Халиков С.С., Чистяченко Ю.С., Душкин А.В., Метелева Е.С.* и др. Создание антигельминтных препаратов повышенной эффективности на основе межмолекулярных комплексов действующих веществ с водорастворимыми полимерами, в том числе полисахаридами // Химия в интересах устойчивого развития. 2015. Т. 23. № 5. С. 567–577.
4. *Chistyachenko Y.S., Meteleva E.S., Pakharukova M.Y., Katokhin A.V.* et al. A physicochemical and pharmacological study of the newly synthesized complex of albendazole and the polysaccharide arabinogalactan from larch wood Current Drug Delivery // Current Drug Delivery. 2015. 12(5):477–490.
5. *Gasco M.R.* Method for producing solid lipid microspheres having narrow size distribution. United State Patent. US 188837; 1993.
6. *Heidari-Kharaji M., Taheri T., Doroud D.*, et al. Solid lipid nanoparticle loaded with paromomycin: in vivo efficacy against *Leishmania tropica* infection in BALB/c mice model // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016. 100: 7051–7060.
7. *Mukherjee S., Ray S., Thakur R.S.* Solid lipid nanoparticles: a modern formulation approach in drug delivery system // Indian J. Pharm Sci. 2009. 71(4): 349–58.
8. *Marslin G., Siram K., Liu X.*, et al. Solid lipid nanoparticles of albendazole for enhancing cellular uptake and cytotoxicity against U-87 MG glioma cell lines // Molecules. 2017. 22:2040.
9. *Muller R.H., Jacobs C., Kayser O.* Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. Rationale for development and what we can expect for the future // Adv. Drug Deliv. Rev. 2001. 47: 3–19.

10. *Omwoyo W.N., Melariri P., Gathirwa J.W.*, et al. Development, characterization and antimalarial efficacy of dihydroartemisinin loaded solid lipid nanoparticles // *Nanomedicine*. 2016. 12: 801–809.
11. *Pensel P.E., Ullio G.G., Fabbri J.*, et al. Cystic echinococcosis therapy: albendazole-loaded lipid nanocapsules enhance the oral bioavailability and efficacy in experimentally infected mice // *Acta Trop*. 2015.152: 185–194.
12. *Sun Y.* et al Nanoparticles for antiparasitic drug delivery // *Drug Delivery*. 2019. 26: 1206-1221
13. *Ullio Gamboa G.V., Pensel P.E., Elissondo M.C.*, et al. Albendazole lipid nanocapsules: optimization, characterization and chemoprophylactic efficacy in mice infected with *Echinococcus granulosus* // *Exp. Parasitol*. 2019. 198: 79–86.
14. *Wagner V., Dullaart A., Bock A.K.*, et al. The emerging nanomedicine landscape // *Nat. Biotechnol*. 2006. 24:1211–1217.
15. *Xie S.Y., Pan B.L., Wang M.*, et al. Formulation, characterization and pharmacokinetics of praziquantel-loaded hydrogenated castor oil solid lipid nanoparticles // *Nanomedicine*. 2010. 5: 693–701.

References

1. Arkhipov I.A. Anthelmintics: pharmacology and application. Moscow: RAAS, 2009. 406 p. (In Russ.)
2. Varlamova A.I., Limova Yu.V., Sadov K.M., Sadova A.K. et al. Efficacy of the supramolecular complex of fenbendazole in sheep nematodoses. *Russian Parasitological Journal*. 2016; 35(1):76–81. (In Russ.)
3. Khalikov S.S., Chistyachenko Yu.S., Dushkin A.V., Meteleva E.S. et al. Creation of anthelmintic drugs of increased efficacy on the basis of supramolecular complexes of active substances with water-soluble polymers, including polysaccharides. *Chemistry in the interests of sustainable development*. 2015; 23(5):567–577. (In Russ.)
4. Chistyachenko Y.S., Meteleva E.S., Pakharukova M.Y., Katokhin A.V. et al. A physicochemical and pharmacological study of the newly synthesized complex of albendazole and the polysaccharide arabinogalactan from larch wood *Current Drug Delivery*. 2015; 12(5):477–490.
5. Gasco M.R. Method for producing solid lipid microspheres having narrow size distribution. United State Patent. US 188837; 1993.
6. Heidari-Kharaji M., Taheri T., Doroud D., et al. Solid lipid nanoparticle loaded with paromomycin: in vivo efficacy against *Leishmania tropica* infection in BALB/c mice model. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2016; 100:7051–7060.
7. Mukherjee S., Ray S., Thakur R.S. Solid lipid nanoparticles: a modern formulation approach in drug delivery system. *Indian J. Pharm Sci*. 2009; 71(4):349-58.

8. Marslin G., Siram K., Liu X., et al. Solid lipid nanoparticles of albendazole for enhancing cellular uptake and cytotoxicity against U-87 MG glioma cell lines. *Molecules*. 2017; 22:2040.
9. Muller R.H., Jacobs C., Kayser O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. Rationale for development and what we can expect for the future. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001; 47:3–19
10. Omwoyo W.N., Melariri P., Gathirwa J.W., et al. Development, characterization and antimalarial efficacy of dihydroartemisinin loaded solid lipid nanoparticles. *Nanomedicine*. 2016; 12:801–809.
11. Pensel P.E., Ullio G.G., Fabbri J., et al. Cystic echinococcosis therapy: albendazole-loaded lipid nanocapsules enhance the oral bioavailability and efficacy in experimentally infected mice. *Acta Trop.* 2015; 152:185–194.
12. Sun Y. et al Nanoparticles for antiparasitic drug delivery. *Drug Delivery*. 2019; 26:1206–1221
13. Ullio Gamboa G.V., Pensel P.E., Elissondo M.C., et al. Albendazole lipid nanocapsules: optimization, characterization and chemoprophylactic efficacy in mice infected with *Echinococcus granulosus*. *Exp. Parasitol.* 2019; 198:79–86.
14. Wagner V., Dullaart A., Bock A.K., et al. The emerging nanomedicine landscape. *Nat. Biotechnol.* 2006; 24:1211–1217.
15. Xie S.Y., Pan B.L., Wang M., et al. Formulation, characterization and pharmacokinetics of praziquantel-loaded hydrogenated castor oil solid lipid nanoparticles. *Nanomedicine*. 2010; 5:693–701.