

НАНОТЕХНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ ФАРМАКОЛОГИИ

Н. Л. ШИМАНОВСКИЙ

NANOTECHNOLOGIES IN CONTEMPORARY PHARMACOLOGY

N. L. SHIMANOVSKY

*Российский государственный медицинский университет Росздрава, Москва,
Российская Федерация*

Рассмотрены некоторые актуальные вопросы применения нанотехнологий в фармакологии, способствующих прогрессу современной медицины. Описаны возможности применения липосом, фуллеренов и наночастиц металлов для диагностики и лечения ряда социально значимых заболеваний.

Ключевые слова: липосомы, фуллерены, наночастицы металлов.

Some urgent issues of application of nanotechnology in pharmacology promoting progress of modern medicine are described. The possibilities of use of liposomes, fullerenes and nanoparticles of metals in diagnosis and treatment of a number of socially significant diseases are described.

Key words: liposomes, fullerenes, nanoparticles of metals.

Под нанотехнологиями понимают совокупность приемов и методов, применяемых при создании, изучении, производстве и использовании наноструктур (размер около 1–700 нм) с новыми химическими, физическими, биологическими свойствами [1]. Так как нанотехнологии помогают создавать новые соединения и структуры, они имеют особую привлекательность для фармакологии, основной задачей которой является поиск новых высокоэффективных лекарственных средств. Сами по себе нанотехнологии основаны на взаимопроникновении различных областей науки — химии, физики, биологии, медицины, генетики, материаловедения, информатики и др. О нанотехнологиях стали говорить сначала в области материаловедения и микроэлектроники. Фармакологи уже давно при создании новых лекарственных веществ и объяснении механизма их действия работают на молекулярном, иногда даже субмолекулярном уровне, то есть с молекулами размером менее 1 нм. Поэтому сегодняшний интерес к нанотехнологиям в фармакологии связан не столько с геометрическими размерами, сколько с новыми способами получения и использования лекарственных средств с помощью методов нанотехнологий. Причем эти методы могут носить как прикладной характер, например методы получения липосомальных или микронизированных лекарственных форм, так и поисковый характер, что гораздо интереснее, так как находится в области пока еще не апробированных междисциплинарных методов создания потенциальных лекарственных средств с принципиально новыми видами биологической активности [2].

Если прикладные вопросы использования нанотехнологий в фармакологии достаточно хорошо

описаны (они уже разрабатываются несколько десятилетий), то поисковые работы с помощью методов нанотехнологий находятся в самом начале своего развития и представляют наибольший интерес. С нашей точки зрения в фармакологии такие поисковые работы могут дать наиболее быстрые результаты в трех классах наночастиц: липосомах, фуллеренах и наночастицах металлов.

**НАНОЧАСТИЦЫ В ВИДЕ ЛИПИДНЫХ
ВЕЗИКУЛ — ЛИПОСОМ**

Фармакология уже имеет в своем арсенале наночастицы, которые содержат лекарственные средства и могут доставлять их в клетки. Эти частицы представляют собой липосомы — сферические двухслойные мембраны, содержащие внутри лекарственные вещества. История липосом начинается с 60-х годов XX века, когда английский ученый Алек Бэнгхем вместе с коллегами, проводя исследования поведения фосфолипидов в водных средах, на электронных микрофотографиях увидел слоистые частицы, похожие на мембранные структуры клетки. Дальнейшие исследования показали, что неорганические ионы, присутствующие в растворе, включаются внутрь этих частиц и удерживаются там длительное время. Так впервые было установлено, что фосфолипиды, являющиеся основными компонентами клеточных мембран, способны самопроизвольно образовывать в воде замкнутые мембранные оболочки, которые захватывают часть окружающего водного раствора, а образующая их фосфолипидная мембрана обладает свойствами полупроницаемого барьера.

Самое важное для фармакологов то, что липосомы способны самопроизвольно заключать в себя среду, в которой находятся, и переносить заклю-

ченные в них молекулы химических соединений. Фармакотерапевтические преимущества липосом обусловлены рядом факторов, среди которых природная биосовместимость материала липосом, избирательность депонирования относительно клеток, находящихся в состоянии гипоксии, возможность регулировать липидный состав липосом и тем самым изменять их фармакокинетику и фармакодинамику, то есть регулировать как органотропность, так и характер фармакологической активности.

Липосомальные системы следует рассматривать не только как носители лекарственных средств, но и как самостоятельные факторы фармакокоррекции патологических состояний. На основе липосом был создан антигипоксически-антиоксидантный препарат липин — первое в мире промышленно освоенное липосомальное лекарственное средство.

Механизм действия липосом, возможно, заключается в модификации фосфолипидного окружения ионных каналов, мембранных рецепторов и ферментов: если оно меняется, то, соответственно, меняется и их активность. Меняя липидный состав липосом можно направленно изменять их фармакологические эффекты.

НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДА — ФУЛЛЕРЕНЫ

До недавнего времени было известно, что углерод образует три аллотропные формы: алмаз, графит и карбин. Аллотропия (от греч. *allos* — иной, *troros* — поворот, свойство, существование одного и того же элемента в виде различных по свойствам и строению структур. Начиная с 1990 г., когда два ученых Вольфганг Кретчмер и Дональд Хаффман со своими аспирантами опубликовали в журнале *Nature* статью, в которой описали метод получения фуллеренов испарением графитовых электродов в электрической дуге в атмосфере гелия, стало известно о четвертой аллотропной форме углерода, названной фуллереном.

В литературе можно встретить термин «наногуглерод» (*nanocarbon*) для обозначения семейства, состоящего из различных типов фуллеренов: углеродных нанотрубок, нанографита, наноалмазов. И фуллерены, и нанотрубки представляют собой полые углеродные капсулы. Наиболее популярные и изученные фуллерены из 60 и 70 атомов углерода (C_{60} и C_{70}) похожи по форме на крышки традиционного футбольного мяча и мяча для американского футбола, то есть их форма близка к сферической. Только диаметр этих мячей около 0,7 нм. Нанотрубки — по форме цилиндры, причем их длина может в тысячи раз превышать диаметр, который тоже около 0,7 нм. Поэтому «крышечками» таких цилиндров могут быть «половинки» фуллеренов. Толщина сферической оболочки 0,1 нм, радиус молекулы C_{60} — 0,357 нм. Длина связи C—C в пятиугольнике 0,143 нм, в шестиугольнике — 0,139 нм.

Молекулы высших фуллеренов C_{70} , C_{74} , C_{76} , C_{84} , C_{164} , C_{192} , C_{216} также имеют форму замкнутой поверхности. Фуллерены с $n < 60$ оказались неустойчивыми.

Химические модификации фуллеренов и их биологическая активность. Молекулы фуллеренов, в которых атомы углерода связаны между собой как одинарными, так и двойными связями, являются трехмерными аналогами ароматических структур. Обладая высокой электроотрицательностью, они выступают в химических реакциях как сильные окислители. Присоединяя к себе радикалы различной химической природы, фуллерены способны образовывать широкий класс химических соединений, обладающих различными физико-химическими свойствами.

Присоединение к C_{60} радикалов, содержащих металлы платиновой группы, позволяет получить ферромагнитные материалы на основе фуллерена. В настоящее время известно, что более трети элементов периодической таблицы могут быть помещены внутрь молекулы C_{60} . Имеются сообщения о внедрении атомов лантана, никеля, натрия, калия, рубидия, цезия, атомов редкоземельных элементов, таких как тербий, гадолиний и диспрозий.

Разнообразие физико-химических и структурных свойств соединений на основе фуллеренов позволяет говорить о химии фуллеренов как о новом перспективном направлении органической химии.

Фармакологические свойства фуллеренов и их производных. Сами по себе углеродные фуллерены как сильные окислители обладают цитотоксичностью, связанной с индукцией перекисного окисления липидов. Поэтому для создания фуллеренов с удовлетворительной биосовместимостью необходимы их химические модификации (например, включение гидроксильных или N-этиламиногрупп). Маленький размер фуллеренов и возможность присоединения к ним лекарственных средств и других лигандов, придающих им органотропность, делают их весьма привлекательными для разработки нового типа лекарственных средств. Выявлено, что фуллереновое ядро обладает чрезвычайно высокой способностью улавливать свободные радикалы, что делает фуллерены перспективными в аспекте возможного применения при патологиях, связанных с повреждающим действием радикалов (при болезни Паркинсона, Альцгеймера или ишемии тканей). Показано, что фуллерены способны уменьшать апоптоз нейронов, индуцируемый радикалами кислорода. Ингибируя уровень радикалов кислорода, фуллерены могут оказывать противоаллергический эффект, обнаруженный J. Ryan et al. [3].

Исследователи экспериментировали с тучными клетками человека и мышей. Эти клетки в больших количествах содержатся в лимфатических узлах, селезенке и костном мозге. При контакте с аллергенами они начинают активно вырабатывать гистамин — биологически активное вещество, участвующее в запуске аллергической реакции.

Как показали эксперименты, добавление модифицированного фуллерена- C_{60} сокращало продукцию гистамина в колонии клеток приблизительно в 50 раз. Аллергическая чувствительность также значительно сокращалась у подопытных мышей, получавших инъекции этого соединения. При этом, вопреки опасениям исследователей, не было выявлено каких-либо признаков токсичности использованного в эксперименте наноматериала.

Молекулы фуллерена- C_{60} обладают высоким сродством с электронами, а значит, должны активно связывать свободные радикалы, высокие уровни которых провоцируют развитие аллергического ответа. Таким образом, использование гидроксильных производных фуллеренов открывает новые возможности в борьбе с аллергией, а также, возможно, и с целым рядом воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

Обсуждается идея создания противораковых препаратов на основе водорастворимых эндоэдральных соединений фуллеренов (это молекулы фуллеренов, внутрь которых помещен один или более атомов какого-либо элемента) с радиоактивными изотопами или соединениями для нейтронзахватной терапии (гадолиний, бор, висмут). Найдены условия синтеза противовирусных и противораковых препаратов на основе фуллеренов. Одна из трудностей при решении этих проблем — создание водорастворимых нетоксичных соединений фуллеренов, которые могли бы вводиться в организм человека и доставляться кровью в орган, подлежащий терапевтическому воздействию. Американская компания C-Sixty Inc. проводит предклинические испытания лекарственных средств на основе фуллереновых наносфер C_{60} с упорядоченно расположенными на их поверхности химическими группами. Эти группы могут быть подобраны таким образом, чтобы связываться с заранее выбранными биологическими мишенями. Спектр возможных применений чрезвычайно широк. Он включает борьбу с вирусными заболеваниями, такими, как грипп и ВИЧ, онкологическими и нейродегенеративными заболеваниями, остеопорозом, заболеваниями сосудов. Например, внутри наносферы может находиться атом радиоактивного элемента, а на поверхности — группы, позволяющие ей прикрепиться к раковой клетке.

В Институте экспериментальной медицины (Санкт-Петербург) использовали аддукт фуллерена с поливинилпирролидоном (ПВП). Это соединение хорошо растворимо в воде, а полости в его структуре близки по размерам к молекулам C_{60} . Полости легко заполняются молекулами фуллерена, и в результате образуется водорастворимый аддукт с высокой антивирусной активностью. Поскольку сам ПВП не обладает антивирусным действием, вся активность приписывается содержащимся в аддукте молекулам C_{60} .

В пересчете на фуллерен эффективная доза составляет примерно 5 мкг/мл, что значительно

ниже соответствующего показателя для ремантадина (25 мкг/мл), традиционно используемого в борьбе с вирусом гриппа. В отличие от ремантадина, который наиболее эффективен в ранний период заражения, аддукт C_{60} с ПВП обладает устойчивым действием в течение всего цикла размножения C_{60} с ПВП вируса. Другая отличительная особенность сконструированного препарата — его эффективность против вирусов гриппа А и В.

НАНОЧАСТИЦЫ МЕТАЛЛОВ

Наночастицы металлов в настоящее время также имеют широкие перспективы использования в качестве лекарственных средств для диагностики и лечения ряда заболеваний.

Наличие у наночастиц оксида железа парамагнитных и суперпарамагнитных свойств оказалось очень полезным для их использования в качестве магниторезонансных контрастных средств (МРКС) при проведении магниторезонансной томографии (МРТ) — одного из ведущих методов неинвазивной диагностики широкого спектра заболеваний внутренних органов. Наряду с совершенствованием магниторезонансных томографов и математического обеспечения продолжается разработка новых МРКС, в особенности тех, которые обладают органотропностью и безопасностью.

МРКС, изменяя параметры протонов в тканях и органах, значительно повышают контрастность изображения, увеличивая диагностическую информативность МРТ [4]. Первыми МРКС, внедренными в клиническую практику, стали гадолинийсодержащие вещества. Их недостатком оказалась возможность развития нефрогенного системного фиброза у больных с почечной недостаточностью и воспалительными заболеваниями [5–7]. При поиске других МРКС исследователи обратили внимание на наночастицы оксида железа, обладающие достаточной контрастирующей способностью. Среди железосодержащих МРКС выделяют: SPIO — суперпарамагнитный оксид железа, USPIO — суперпарамагнитный оксид железа в виде ультрамалых частиц и MION — монокристаллический оксид железа.

Препараты SPIO (Fe_2O_3) имеют кристаллическую структуру и значительно ускоряют протонную релаксацию тканей. Диаметр частиц SPIO меньше эритроцита, что позволяет им проникать через капиллярную сеть. Разработанные препараты SPIO имеют необходимые величины заряда и размеры для избирательного поглощения клетками ретикулоэндотелиальной системы (РЭС). После деградации SPIO в РЭС атомы железа включаются в состав гемоглобина эритроцитов. Количество железа, поступающего в организм в составе SPIO при диагностике, значительно ниже общей величины депо железа.

Препараты SPIO относятся к тканеспецифическим МРКС, имея тропность к РЭС и позволяя контрастировать печень, селезенку и костный мозг. Они улучшают визуализацию диффузных

и очаговых поражений селезенки, а также позволяют дифференцировать лимфатические узлы с метастазами от нормальных. Частицы суперпарамагнитного оксида железа обеспечивают получение ценной диагностической информации при злокачественных опухолях печени, а также при наличии гемангиом, кист, узловых гиперплазий. Железосодержащий препарат эндорем (ферум-оксид) позволяет выявлять метастазы в печени в 95% случаев. При циррозе печени происходит снижение поглощения эндорема печенью.

Имеется опыт применения SPIO для диагностики очаговых поражений печени у 900 больных. Чувствительность метода МРТ в сочетании со SPIO составила 93,8%, а специфичность — 91,5%.

МРТ в сочетании со SPIO позволяет получить хорошую визуализацию опухолей костного мозга и дифференцировать опухолевые очаги от участков гиперплазий.

Наночастицы оксида железа ультрамалого размера UPSIO (менее 20 нм) предназначены для МР-ангиографии у человека. Препарат АМІ-277 (синерем) улучшал визуализацию почечной артерии и правой коронарной артерии. Кроме того, с помощью АМІ-277 удалось визуализировать аорту, нижнюю полую вену и воротную вену у 16 больных в течение 45 мин.

С помощью вещества NC100150 (кларискан) можно проводить коронарную МР-ангиографию и получать изображения центральных, сегментарных и субсегментарных артерий. При использовании UPSIO в виде болюса для перфузионных исследований не обнаружено каких-либо побочных реакций.

Наночастицы суперпарамагнитного оксида железа UPSIO помогают выявлять ишемические поражения головного мозга на ранних стадиях, идентифицировать участки ишемии миокарда, оценивать функцию почек и их гемодинамику.

Для создания органотропных МРКС на основе частиц суперпарамагнитного железа можно использовать их конъюгаты со специфическими антителами. В частности, имеются данные о возможности идентификации инфаркта миокарда с помощью антимизоиновых антител, конъюгированных с MION.

Ультрамалые частицы железа USPIO можно использовать для целей МР-ангиографии, а также для оценки стадии заболевания раком молочной железы.

Препараты SPIO, имеющие сравнительно большие размеры частиц, предназначены для контрастирования желудочно-кишечного тракта. Обычная доза SPIO (900 мг) для контрастирования всего кишечника переносится хорошо.

В сравнении с другими МРКС острая и хроническая токсичность SPIO или USPIO при использовании их у животных выражена в меньшей степени. В дозе, превышающей диагностическую в 100 раз, SPIO не вызывал видимых изменений

в органах и тканях у экспериментальных животных.

Анализ литературы по железосодержащим МРКС позволяет заключить, что эти препараты имеют большие перспективы для клинического применения в качестве органотропных РКС (препаратов, избирательно поглощаемых тканями, богатыми ретикуло-эндотелиальными клетками) и можно ожидать расширения показаний для их применения и создания новых эффективных и безопасных контрастно-диагностических средств.

Наночастицы оксида железа можно использовать для метки стволовых или раковых клеток. В первом случае с их помощью можно следить за миграцией введенных в организм стволовых клеток, а во втором — за метастазированием.

Превращение раковых клеток в минимагниты с использованием наночастиц может сделать биопсию настолько точной и эффективной, что не будет необходимости повторять эту болезненную процедуру. Идея заключается в использовании наночастиц оксида железа, покрытых биологически совместимым материалом и антителами, которые вступают в реакцию с химическими веществами, встречающимися только в раковых клетках. При попадании в организм тысячи частиц прилипают к раковым клеткам, превращая их в миниатюрные магниты. В результате эти клетки притягиваются к магнитам, находящимся на кончике иглы для биопсии. Математическая модель системы подтвердила, что игла может притягивать за две-три минуты значительное число раковых клеток, нагруженных наночастицами. В лабораторных условиях исследователи продемонстрировали, что намагниченная игла может притягивать клетки, зараженные лейкемией, окруженные наночастицами и находящиеся в крови или других средах, имитирующих тканевые жидкости. Результаты биопсии не всегда однозначны — иногда они могут быть негативными только потому, что в исследуемом образце слишком мало злокачественных клеток, а не потому, что болезнь исчезла без следа. Теперь исследователи нашли решение, основанное на силе магнитного притяжения.

Эта технология может быть полезной для больных лейкемией, которым необходимо регулярно делать биопсию костного мозга для выявления остаточных признаков болезни. Технология позволяет также выявлять злокачественные метастазируемые клетки из тканей грудной клетки, простаты, яичников, которые попали в другие части тела в слишком ничтожных количествах для обнаружения их с помощью обычной иглы.

Другое клиническое использование наночастиц оксидов металлов основано на их способности аккумулялировать магнитное или фотонное излучение и затем превращать его в другие, например, тепловые лучи, приводящие к деструкции опухоли или микробных клеток. Для борьбы с патогенами предложено использовать фототермическую терапию. Для этой цели были получены магнит-

ные наночастицы оксида железа, покрытые SiO₂ и обработанные ультразвуком, чтобы предотвратить агрегацию наночастиц. Образовавшиеся при этом наночастицы по форме напоминали яйцо. Затем на поверхности этих частиц был выращен слой золота: сначала добавили «золотые зародыши», которые прилипли к поверхности частиц, а потом поместили частицы в раствор, содержащий HAuCl₄. Цвет раствора при этом изменился с бледно-розового на темно-зеленый, а частицы сохранили форму яйца, в связи с чем такие частицы называют «нанояйцами». Было показано, что бактерии в присутствии таких нанояиц образуют конгломераты во внешнем магнитном поле достаточно быстро. Чтобы нанояйца связывались с поверхностью бактерий более эффективно, к ним был пришит ванкомицин. Это вещество — антибиотик, ингибитор синтеза клеточной стенки бактерий, но в данном случае главную роль играла его способность связываться с определенными пептидными структурами на бактериальной поверхности. Модифицированные ванкомицином наночастицы связываются как с ванкомицин-неустойчивыми, так и с ванкомицин-резистентными штаммами самых различных бактерий, и под воздействием внешнего магнитного поля бактерии образовывали агрегаты (скопления) и теряли способность к размножению. При их последующем облучении лазером (808 нм) в течение 3 мин возникла гипертермия и более 99,5% бактерий погибало в течение 15 мин. При тех же условиях выжило более 80% клеток млекопитающих (показано на примере клеток карциномы человека).

Проведенные в последние годы исследования по созданию и изучению новых аллотропных форм углерода (нанотрубки, фуллерены), липидных везикул, наночастиц металлов и различных полимеров показывают, что нанотехнологии открывают новые возможности для получения целевых препаратов, наночастиц с принципиально новыми, еще не изученными свойствами, и для диагностики (наночастицы оксида железа как органотропные магниторезонансные контрастные

средства). Наносомальные многофункциональные платформы должны обеспечить сочетание диагностики и лечения.

В фармакологии актуальны также разработки нанотехнологий, которые связаны с приданием ряду лекарственных средств лучшей водорастворимости. Например, получены водорастворимые фракции бета-каротина, которые усваиваются организмом в 20 раз лучше, чем его жирорастворимая форма. Уже активно используются в стоматологии наночастицы гидроксиапатита для ускорения заживления костных переломов.

Инновационные медицинские технологии, базирующиеся на нанотехнологиях и клеточных технологиях, позволяют создать устройства для регистрации межмолекулярных взаимодействий на основе оптических и нанобиосенсоров для диагностики вирусных и раковых заболеваний; для высокопроизводительного чтения геномов на основе нанодетекторов. Благодаря подобным исследованиям разрабатываются эффективные методы функциональной клинической геномики и протеомики, позволяющие проводить диагностику наследственных и мультифакториальных заболеваний человека.

Современные высокотехнологичные методы регуляции репродукции и лечения сердечно-сосудистых заболеваний включают использование лучевой диагностики (компьютерной томографии, магниторезонансной и ультразвуковой визуализации с контрастным усилением), молекулярной визуализации и радиотерапии короткоживущими радиоизотопами. Современные врачи, в частности хирурги, должны владеть технологиями малоинвазивных кардиологических, урологических, гинекологических и сосудистых вмешательств, коронарного стентирования, использования стволовых клеток у больных с ишемическими поражениями, применения лазерных и радиочастотных технологий для малоинвазивной и высокоточной хирургии и генной терапии с помощью наночастиц с целевыми и векторными свойствами.

Литература

1. Yang X. Nano- and microparticle-based imaging of cardiovascular interventions: Overview // *Radiology*.— 2007.— Vol. 243.— P. 340–347.
2. Gholam A. Peyman G. A. Micro- and nanoparticulates // *Advanced Drug Delivery Reviews*.— 2005.— Vol. 57.— P. 2047–2052.
3. Fullerenes inhibit IgE-induced anaphylaxis in vivo / J. Ryan, H. R. Bateman, A. Stover et al. // *J. Immunol.*— 2007.— Vol. 179.— P. 665–672.
4. Bellin M.-F., Van Der Molen A. J. Extracellular gadolinium-based contrast media: An overview // *Eur. J. Radiol.*— 2008.— Vol. 66.— P. 160–167.
5. Dermal inorganic gadolinium concentrations: evidence for in vivo transmetallation and long-term persistence in nephrogenic systemic fibrosis / J. J. L. Abraham, C. Thakral, L. Skov et al. // *Br. J. Dermatol.*— 2008.— Vol. 158.— P. 273–280.
6. Gadodiamide-associated nephrogenic systemic fibrosis: why radiologists should be concerned / D. R. Broome, M. S. Girguis, P. W. Baron et al. // *Am. J. Roentgenol.*— 2007.— Vol. 188.— P. 586–592.
7. Preclinical study to investigate the development of nephrogenic systemic fibrosis: a possible role for gadolinium-based contrast media / M. A. Sieber, H. Pietsch, J. Walter et al. // *Invest. Radiol.*— 2008.— Vol. 43.— P. 65–75.

Поступила 14.01.2009