

Разработка средств тераностики заболеваний сердца и сосудов на основе полимерных и белковых биodeградируемых наноразмерных носителей

Актуальность исследования

Современный этап развития медицинской терапии и диагностики подразумевает развитие малоинвазивных методов, включая методы адресной доставки лекарственных препаратов непосредственно в место воздействия. Одним из возможных подходов решения задач адресной доставки является применение направленного транспорта, основанного на использовании в качестве носителя наночастиц. Наиболее перспективными для этих целей представляются полимерные и белковые нанообъекты, которые обладают наименьшей по сравнению с другими классами наночастиц токсичностью по отношению к клеткам крови, органам и кровеносным сосудам, а также имеет малый период полувыведения вследствие способности к биodeградации. Иммобилизация на поверхности или нанокапсулирование в таких наноразмерных объектах лекарственных веществ и флуоресцентных красителей позволит совместить терапию и диагностику в рамках концепции тераностики.

Научная платформа

Фармакология

Планируемый (ые) научные подразделения исполнители(с указанием руководителя исследования)

Руководитель исследования заведующий НИЛ нанотехнологий Института экспериментальной медицины Королев Д. В.

Исполнители:

НИЛ нанотехнологий

НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда

Ключевые слова

Полимерные биodeградируемые наночастицы, тераностика, направленная доставка, флуоресцентная визуализация

Цель проекта

Разработка нового класса лекарственных препаратов, предназначенных для комбинирования методов диагностики и терапии с целью их применения в рамках концепции тераностического полимерных и белковых наноразмерных носителях

Задачи проекта

1. Выбор типа наночастиц, отработка технологии их синтеза.
2. Модификация поверхности наночастиц с целью их стабилизации и прививки спейсера.
3. Выбор кардиопротектора, флуорофора и способа визуализации, иммобилизация на поверхности наночастиц.
4. Изучение физико-химических свойств, полученных нанообъектов (физическая и химическая охарактеризация).
5. Оценка эффектов доставки и визуализации.
6. Оценка биологических свойств, полученных нанообъектов.

Ожидаемые результаты проекта

Одним из перспективных и стремительно развивающихся направлений современной фармакологии является адресная (или таргетная) доставка лекарственных препаратов.

Несмотря на достижения медицины в лечении ряда заболеваний, многие лекарственные препараты обладают серьезным недостатком — негативным воздействием на интактные ткани.

Иммобилизация лекарств на наноносителях позволяет повысить их биодоступность, улучшая растворимость и обеспечивая преодоление различных барьеров, например, гематоэнцефалического барьера, снизить влияние на организм в целом, целенаправленно воздействуя на поврежденную область. Таким образом, иммобилизованные на наноносителях препараты открывают новые перспективы для эффективного лечения различных очаговых патологических процессов: воспалительных процессов, опухолей, в том числе патологии сердца – инфаркта миокарда. Сочетание методов адресной доставки лекарственных препаратов с возможностью визуализации посредством флуоресцентных красителей позволяет достичь качественно новых терапевтических результатов.

В ходе выполнения проекта предполагается получить следующие результаты:

1. Технология получения препаратов коллоидных частиц на основе полимерных и белковых носителей с высокой коллоидной устойчивостью и низкой токсичностью.
2. Анализ экспериментальных данных по токсичности различных по химическому составу и концентрациям коллоидных полимерных и белковых частиц в отношении к клеткам крови и кровеносных сосудов.
3. Методика иммобилизации лекарственных препаратов на поверхности наночастиц.
4. Методика пассивной направленной доставки коллоидных полимерных и белковых наночастиц, функционализированных флуоресцентными красителями и кардиопротективными лекарственными препаратами.
5. Результаты изучения возможности флуоресцентной визуализации повреждений при помощи наночастиц с иммобилизованными флуоресцентными красителями.

Планируется получение двух патентов на изобретения.

Назначение и предполагаемое использование (внедрение) результатов проекта

Согласно данным ВОЗ (<http://www.who.int/ru/>, дата обращения: март 2016), в настоящее время во всем мире наиболее частой причиной смерти являются макрососудистые события (инфаркты, инсульты). Одним из перспективных и стремительно развивающихся направлений современной фармакологии в данной области является адресная доставка лекарственных препаратов. При этом концепция направленного транспорта лекарственных веществ базируется на двух подходах: пассивной (за счет структурных нарушений тканей в условиях патологии) и активной доставки (например, за счет применения направляющих лигандов). Наиболее перспективным средством адресной доставки лекарств можно рассматривать полимерные и белковые наночастицы, что связано с их способностью к биodeградации, биосовместимостью, возможностью придания им определенных свойств посредством поверхностной модификации лекарственными препаратами и флуорофорами.

Проект направлен на разработку нового класса лекарственных препаратов, предназначенных для комбинирования методов диагностики и терапии с целью их применения в рамках концепции тераностики для адресной доставки лекарств, гарантирующей улучшение эффективности лечения.

Планируется разработка технологии лабораторного производства и внедрение методов синтеза с целью создания на базе одной из фирм линейки коммерческих полупродуктов для синтеза, а именно наночастиц с функциональными группами.

Описание предлагаемого научного исследования

В ходе выполнения настоящего проекта будет разработана оригинальная методика пассивной адресной доставки кардиопротекторов, связанных с полимерными и белковыми наночастицами, в миокард в условиях *ex vivo* (на модели ишемии-реперфузии изолированного сердца крысы) и *in vivo* (на модели ишемии-реперфузии миокарда) с

оценкой эффективности адресной доставки. Изучение эффективности пассивной доставки кардиопротекторов в миокард, а также изучение основных механизмов реализации их протективного эффекта позволит получить приоритетные данные в области кардиопротекции, а также экспериментально обосновать возможность такой доставки кардиопротекторов в зону ишемии-реперфузии миокарда с использованием биodeградируемых полимерных и белковых нанообъектов. Основная задача, поставленная в настоящем проекте, является абсолютно актуальной для мирового научного сообщества, а результаты проекта можно расценивать как конкурентоспособные с точки зрения используемых методических подходов и уровня квалификации команды исполнителей проекта. Научный коллектив имеет требуемый практический задел в области получения полимерных наночастиц на основе хитозана, полисиланов, альбумина, обладающих агрегативной и седиментационной устойчивостью, возможностью иммобилизации флуоресцентных красителей и лекарственных веществ целевым образом доставляемых к очагу поражения. Имеющееся техническое оснащение и запланированное к приобретению оборудования и расходные материалы в полной мере позволяют обеспечить достижимость поставленных в проекте задач.

Описание научных подходов и методов, используемых для решения поставленных задач

На начальном этапе будет проведен патентный поиск и анализ литературы по теме проекта. Для синтеза наночастиц будут использованы методы поликонденсации, сшивки, гелирования, измельчения до наноуровня, фракционирования с использованием центрифужных нанофильтров.

Для характеристики физических свойств, полученных наноматериалов, планируется применять следующие методы (приборы):

- для оценки химического состава: спектрофотометрическое определение с селективными красителями, ИК-спектрометр;
- для оценки формы, размеров и зета-потенциала наночастиц: сканирующая электронная микроскопия; динамическое светорассеяние, фотонная корреляционная спектроскопия (ZetaSizerNano), метод низкотемпературной адсорбции азота для определения удельной поверхности (ASAP 2020MP);

Для получения стабильных коллоидных растворов, устойчивых во времени планируется провести дополнительное исследование с целью получения необходимого заряда поверхности.

Исследование заряда поверхности планируется вести на ZetaSizerNano, коллоидной устойчивости - на спектрофотометре Unico 2802s в динамическом режиме.

Присоединение лекарственных препаратов к поверхности наночастиц планируется с использованием 3-аминопропилтриэтоксисиланом и аминокислотой, формирующими на поверхности коллоидных частиц свободные аминогруппы. Для этого планируется разработка методов аминирования поверхности нанообъектов.

Эффективность адресной доставки лекарственных веществ, а также изучение основных механизмов реализации протективного эффекта будет осуществляться в различных модельных системах:

- *invivo*, на лабораторных животных (крысы SPF-категории);
- *exvivo*, на модели перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу.

В экспериментах *invivo* с введением в системный кровоток крыс различных полимерных и белковых наночастиц, будут изучены:

- а). органное распределение наночастиц при их введении в организм животного (крысы) в условиях их направленного пассивного транспорта. Оценка биораспределения будет производиться путем забора органов, их лиофилизации, минерализации и последующего аналитического исследования.

б). возможные токсические эффекты (острая и субхроническая токсичность) введения наночастиц различного состава будут оцениваться на основе изменений гемодинамических параметров у крыс, с помощью биохимического исследования крови и морфологических изменений органов.

в). будет разработана система пассивной доставки наночастиц в миокард.

г). будет произведена оценка кардиопротективного эффекта препаратов, иммобилизованных на поверхности наночастиц, в условиях моделирования коронароокклюзионного инфаркта миокарда в эксперименте.

Эффективность направленного транспорта в экспериментах *ex vivo* и *in vivo* будет оцениваться:

а). по накоплению в миокарде полимерных и белковых наночастиц посредством оригинальной аналитической методики;

б). по выраженности протективного эффекта лекарственных веществ, иммобилизованных на поверхности наночастиц.

Флуоресцентная визуализация *invitro* и *in vivo* будет изучаться при помощи флуоресцентного визуализатора PerkinElmer IVIS Lumina III LT. При этом будет изучено накопление наночастиц в зоне интереса, органное биораспределение наночастиц и пути биоэлиминации.