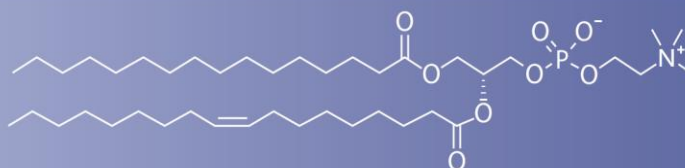


**ФОСФОЛИПИДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ
СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВ И
ТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ**



Москва, 2023

Предисловие

Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича основан в 1944 году и является одной из старейших научных организаций в системе медицинских научно-исследовательских учреждений страны. В течение полувека в ИБМХ проводятся фундаментальные исследования структуры и функций клеточных мембран, внутриклеточных органелл, транспортных белков и белково-липидных комплексов. Результатом этих работ явилось создание гипотезы холестерино-фосфолипидного гомеостаза, присущего клеткам растительного и животного происхождения, поддерживается природовоспроизводимой технологией. Его основным структурно-функциональным компонентом является фосфатидилхолин растительного происхождения с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот.

На основе получения такого фосфатидилхолина в виде наночастиц были разработаны лекарственные препараты для лечения:

1. Заболеваний печени (Фосфоглив®, Витаглив®);
2. Атеросклероза различной локализации (Витафосфолип®);
3. Вирусных пневмоний, включая коронавирусную пневмонию (препарат Фосфофеновир®);
4. Создана универсальная транспортная система для водонерастворимых лекарств, резко улучшающая их фармакокинетику и возможность доставки таких лекарств во все органы и ткани человека.

За создание лекарственного препарата Фосфоглив® авторам была присуждена Премия Правительства РФ (2003 г.). В настоящее время объем продаж препарата составляет около 2,6 млрд. рублей в год. В настоящее время после успешных клинических испытаний в Минздраве РФ проходит регистрация лекарственного препарата Витафосфолип®. Созданы фармакологические композиции фосфатидилхолин-доксорубин, фосфатидилхолин-будесонид, фосфатидилхолин-хлорин Е6, фосфатидилхолин-умифеновир, фосфатидилхолин-сарколизин, фосфатидилхолин-алсевирон, внедрение которых в клинику станет возможным в ближайшее время. «Линейка фосфолипидных препаратов» нарабатывается на лицензированной по правилам GMP (№00469-ЛС от 20.10.2020г.) производственной площадке ИБМХ.

Начаты доклинические испытания препарата Витаглив®. В 2021 году планируется завершить фармакологические и доклинические испытания препарата Фосфофеновир®. По результатам многолетней работы получено: 15 патентов РФ, 1 патент США и Европы, опубликовано большое количество статей, изданных в нашей стране и за рубежом. Изданы

монографии: «Холестериноз», 1983; «Cholesterolosis», 1984; «Фосфоглив», 2005; «Фосфолипидная терапия атеросклероза», 2016).

Фосфолипидные наночастицы (мицеллы), производство которых налажено на лицензированном для медицинских целей участке ИБМХ могут быть использованы в двух целях:

а) в качестве фармакологически активных препаратов, восстанавливающих структурную целостность и функциональную активность биологических мембран альвеол легких, липопротеинов высокой плотности (препараты Витаглив®, Фосфофеновир®, Витафосфолип®);

б) в качестве транспортной системы гидрофобных лекарственных средств, переводящей их из водонерастворимых в водорастворимые соединения и обеспечивающей доставку их в повышенных количествах в органы мишени, путем улучшения фармакокинетики.

Таким образом, созданная в институте система производства фосфатидилхолиновых наночастиц (мицелл) решает фундаментальную проблему использования фосфолипидов в качестве фармакологически активных лекарств (компонентов лекарств) и создания универсальной транспортной системы водосолубизированных лекарств, то есть обеспечивая «новую жизнь» старым, хорошо известным лекарствам, усиливая эффективность их действия и уменьшая побочные эффекты. Созданная в институте фосфолипидная платформа позволит внедрить оригинальную линейку лекарств на основе фосфолипидов, не существующих до сих пор на мировом рынке, и обеспечить ими отечественное здравоохранение.

Лекарственный препарат Витафосфолип®

I. Актуальность

В настоящее время известно, что повышенный уровень ХС атерогенных (ЛНП) и сниженный уровень ХС антиатерогенных липопротеинов (ЛВП) крови, являются одними из основных факторов риска развития атеросклероза сосудов и обусловленных им сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Несмотря на широкий выбор гиполипидемических лекарственных препаратов, в основном статинов, ингибирующих биосинтез холестерина (ХС) и, снижая тем самым уровень ХС ЛНП, проблема лечения атеросклероза до сих пор не решена, а ССЗ остаются главной причиной смертности населения в мире.

По данным Росстата 2017-2018 гг. в РФ ежегодно количество пациентов, перенесших инфаркт миокарда, составляет 240 тыс. человек, а инсульт – 450 тыс. человек. Количество пациентов, которым необходимо лечение нарушений липидного обмена, а также вторичная (постинфарктная и постинсультная) профилактика атеросклероза, составляет по данным института медицинской статистики Министерства здравоохранения РФ 7,5 млн. человек.

Основной сегмент рынка антиатеросклеротических препаратов, направленных на снижение ХС атерогенных ЛНП, представлен различными статинами и составляет около 15 млрд. руб. в год в цене 2019 г. Вместе с тем, терапия статинами охватывает максимально не более 1 млн. человек; 6,5 млн. человек остаются без лечения нарушений липидного обмена и вторичной профилактики ССЗ.

Известно, что высокий уровень холестерина ЛВП связан с уменьшением смертности от ССЗ. Защитное действие ЛВП обеспечивается их участием в целом ряде биологических процессов, среди которых особое значение имеет обратный транспорт холестерина (ОТХ) – выведение ХС из клеток и доставка его в печень для окисления в желчные кислоты с последующим выведением их из организма. Известно также, что низкий уровень ХС ЛВП напротив связан с высокой смертностью от инфаркта миокарда.

В наибольшей степени ХС-акцепторные (т.е. антиатерогенные) свойства ЛВП обусловлены фосфолипидами. В связи с этим, одним из приоритетных направлений исследований в ИБМХ явилось создание фосфолипидных препаратов в инновационной лекарственной форме для профилактики и лечения атеросклероза и нарушений липидного обмена.

I. Разработка лекарственного препарата Витафосфолип®

В результате 20-летних исследований была разработана оригинальная технология получения фосфолипидных препаратов, в виде фосфолипидных наночастиц, размер которых составляет 25 ± 10 нм. В качестве способа получения нанодисперсных эмульсий фосфолипидов был выбран метод гомогенизации высокого давления, позволяющий быстро и воспроизводимо получать большие объемы фосфолипидных наноэмульсий с малым размером частиц в строго контролируемых условиях без использования дополнительного «озвучивания», детергентов и органических растворителей.

Установлено, что обогащение ЛВП фосфолипидными наночастицами – «фосфолипидирование» – приводит к повышению способности частиц ЛВП извлекать меченый ХС из предварительно нагруженных им клеток (См. Рис.1). На основании масс-спектрометрических метаболомных исследований установлено, что наночастицы такого ультрамалого размера эффективно обогащают эссенциальными фосфолипидами ЛВП и усиливают их способность к акцепции ХС из клеточных мембран в модельных экспериментах (См. Рис.2).

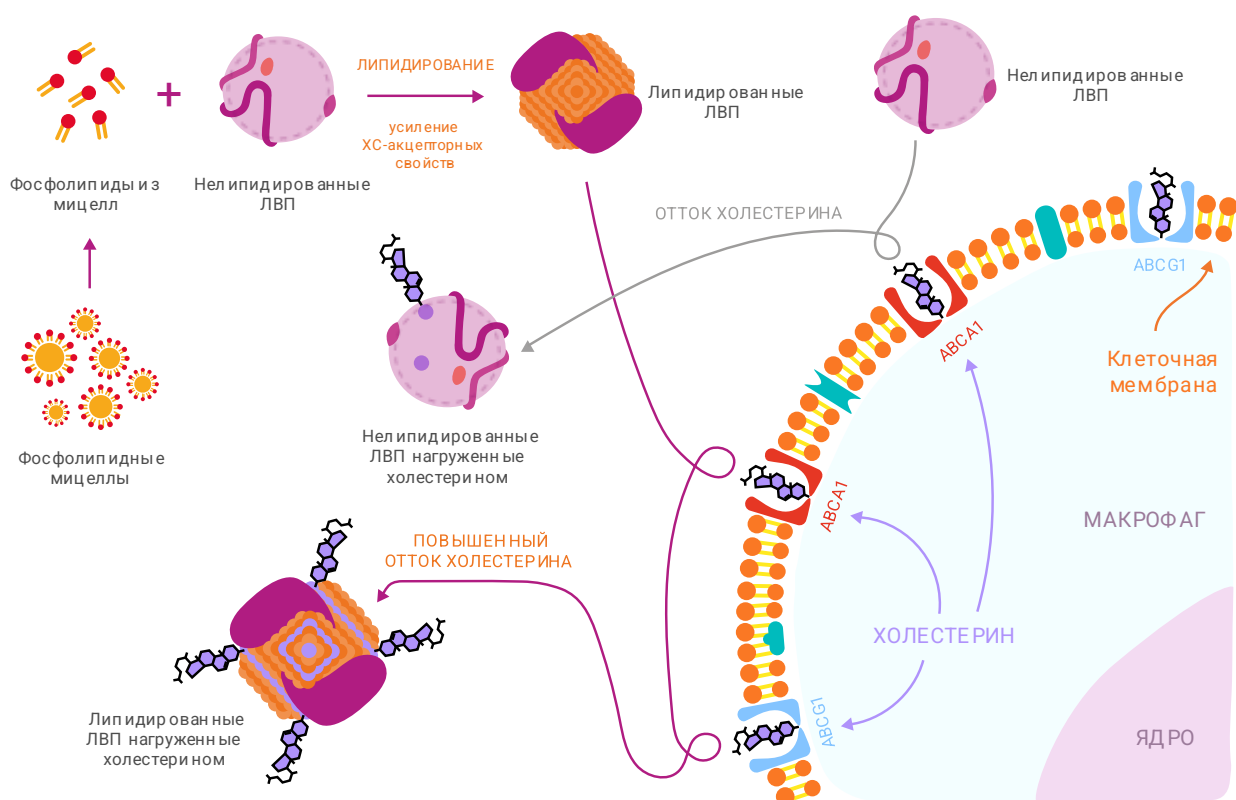


Рисунок 1. Выход меченого холестерина из предварительно нагруженных им клеток макрофагов

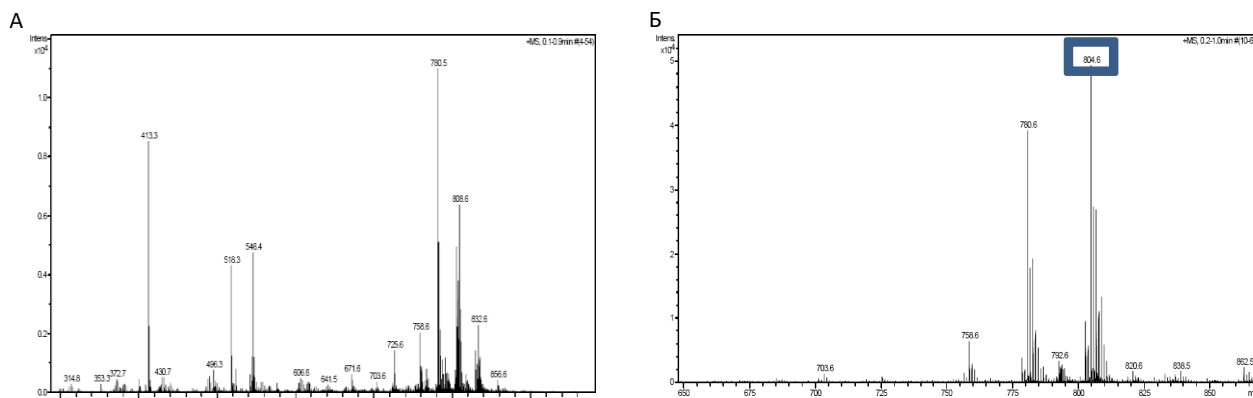


Рисунок 2. Масс-спектры ФХ выделенных ЛВП плазмы

А - нативные ЛВП плазмы; Б – ЛВП плазмы после инкубации с препаратом мицелл соевого ФХ

После инкубации плазмы с препаратом ФЛ мицелл соотношение интенсивностей пиков в ФХ ЛВП меняется (рис. 2Б). Особенно заметно возрастание в ЛВП основного пика ФХ фосфолипидных мицелл, с m/z 804.5 – его уровень в ЛВП возрастает почти в 4 раза. Возрастание интенсивности в ЛВП наблюдается и для пика 806.5 (18:1/18:2). Приближение интенсивностей пиков ФХ в ЛВП к таковому в препарате свидетельствует о транспорте ФЛ из мицелл, то есть обогащении ЛВП фосфатидилхолинами мицелл («фосфолипидировании»), содержащими в основном полиненасыщенную линоленовую кислоту. Полагают, что более высокая степень ненасыщенности фосфолипидов ЛВП способствует их холестеринфильности, что должно повышать их ХС- акцепторную активность.

Результатом фундаментальных исследований в этой области явилась разработка инновационного водорастворимого лекарственного препарата – «Витафосфолип®», порошок для приготовления раствора для применения внутрь, в форме «саше» (патент РФ № 2448715 от 30.12.2010, свидетельство на товарный знак № RU 2018730516 от 27.08.2018, свидетельство на товарный знак № RU 2018730516 от 20.07.2018, свидетельство на товарный знак № RU 2018730517 от 20.07.2018).

Витафосфолип® полностью растворяется в воде с образованием ультратонкой эмульсии с размером частиц 25 ± 10 нм. Отсутствие осмотической активности у такого препарата принципиально отличает его от липосомальных наночастиц (Рис. 3).

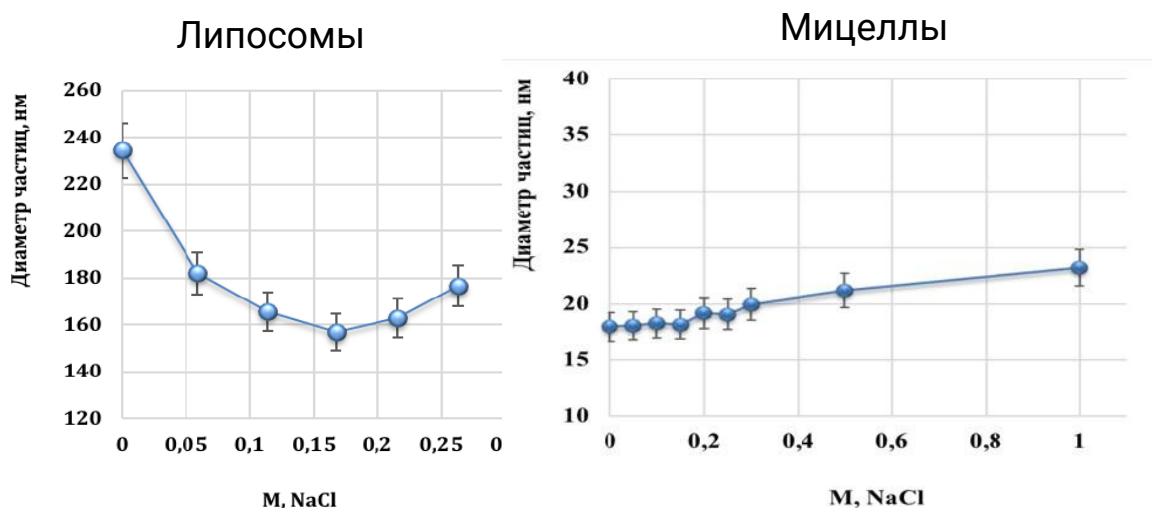


Рисунок 3. Поведение липосом и мицелл в гипертоническом растворе NaCl

Для липосомных частиц с размером ~ 200 нм увеличение ионной силы (начиная с 0,06 М NaCl), с возникающим при этом градиентом концентрации натрия, индуцировало выход воды из внутреннего пространства липосом, приводя к уменьшению их размера. В отличие от липосом, мицеллы сохраняли свой размер до концентрации 0,3М NaCl (20 ± 10 нм). При помещении мицелл в гипертонический раствор NaCl не происходило изменения диаметра частиц, из-за отсутствия внутреннего водного объема.

Таким образом, можно сделать вывод, что полученные ФЛ - наночастицы (мицеллы) – в отличие от липосом – не обладают осмотической активностью и не имеют внутреннего водного объема. Действие препарата «Витафосфолип®» направлено на нормализацию липидного обмена у пациентов с дислипидемией за счет стимулирования процесса обратного транспорта холестерина и увеличения выведения ХС из клеток и атероматозных бляшек. Препарат не обладает токсическим действием и может использоваться при длительной терапии. Лекарственных препаратов с таким механизмом действия в настоящее время на рынке не существует.

III. Характеристика лекарственного препарата Витафосфолип®

Торговое название: Витафосфолип®

МНН: фосфолипиды

Лекарственная форма: порошок для приготовления раствора для приема внутрь

Состав:

Один мини-пакет (саше), 2,5 г содержит - активное вещество: высокоочищенный фосфатидилхолин 500 мг в форме мицелл ультрамалого размера с размером частиц 20 ± 10 нм. вспомогательное вещество: мальтоза 2000 мг.

Фармакотерапевтическая группа:

антиатеросклеротическое средство

Фармакодинамика

Препарат Витафосфолип® регулирует липидный обмен, увеличивает отток ХС из периферических тканей и атеросклеротических бляшек, обладает мембраностабилизирующим действием. Предельно малый размер фосфолипидных мицеллярных частиц, составляющих основу композиции, обуславливает их уникальные свойства, В частности избирательное связывание с ЛВП с последующей более высокой холестерин акцепторной функцией:

Атеросклероз коронарных и церебральных артерий, постинфарктная и постинсультная профилактика атеросклероза, нарушение липидного обмена по типу гипо-альфа-холестеринемии (ХС-ЛВП ниже 1 ммоль/л), индекс атерогенности от 3 до 7.

Способ применения и дозы: Прием по 1 пакету саше 2 раза в день, предварительно растворив в воде, в течение не менее 6 месяцев. При необходимости продолжительность приема препарата не ограничена.

Форма выпуска:

По 10 мини-пакетов (саше) в картонной упаковке с инструкцией по медицинскому применению.

IV. Доклинические и клинические исследования (КИ) препарата Витафосфолип®

При доклинических исследованиях было показано, что препарат Витафосфолип® является малотоксичным, ЛД50 не была достигнута, при исследовании субхронической и хронической токсичности не было обнаружено побочных действий препарата. Препарат не обладает мутагенным, репротоксическим, иммунотоксическим и аллергизирующим действием.

При проведении I и II фазы КИ была отработана доза лекарственного препарата Витафосфолип® для длительного приема, которая составила 2 пакетика (саше) – 1 г фосфолипидов.

В настоящее время завершены клинические исследования III фазы. Они показали эффективность и безопасность препарата у пациентов с дислипидемией. Препарат за 6 месяцев применения пациентами показал снижение триглицеридов на 24%, на 11% повышение ХС ЛВП и снижение индекса атерогенности на 35%, что подтверждает активацию обратного транспорта ХС и его выведение из клеток.

Заключение

Таким образом, действие препарата Витафосфолип® направлено на нормализацию липидного обмена, стабилизацию клеточных мембран, с последующим улучшением функционирования клеток, активации обратного транспорта ХС, усилению выведения ХС из атеросклеротических бляшек, что при длительном приеме приведет к частичному обратному развитию атеросклероза и увеличению периода активного долголетия.

Предполагаемый объем реализации препарата Витафосфолип®

По данным НМИЦ Кардиологии МЗ РФ количество больных с атеросклерозом составляет не менее 50% от взрослого населения РФ в возрасте 50 лет и старше. Заболеваемость инфарктом миокарда в России составляет около 240 тыс. человек в год. Заболеваемость ишемическим инсультом составляет около 450 000 человек в год.

Таким образом, минимальная расчетная потребность применения препарата Витафосфолип® может составлять около 0,5-1 млн. человек в год. При приеме препарата в течение 6 месяцев для этого количества пациентов (1 млн.) потребуется 1 000 000 x 36 пачек (6 месячный курс) = 36 000 000 пачек. При себестоимости пачки Витафосфолипа® ~ 400 руб. в ценах 2019 г. объем рынка этого количества препарата может составлять 14,4 млрд. рублей (около 240 млн. долларов) в год в ценах 2019 г.

Лекарственный препарат Витаглив®

I. Актуальность

В РФ, странах Европы и США более 80 млн человек страдают хроническими заболеваниями печени. По данным ВОЗ смертность от хронических заболеваний печени высока и составляет 17 человек на 100 тыс. населения, в основном, трудоспособного.

К наиболее распространенным хроническим заболеваниям печени следует отнести вирусные гепатиты и их осложнения, а также алкогольную и неалкогольную жировую болезнь печени (неалкогольный стеатогепатит – НАСГ). В РФ, США, странах Европы НАСГ составляет не менее 30% всех хронических заболеваний печени.

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича имеет многолетний опыт работы в области исследований и разработки эффективных лекарственных средств на основе эссенциальных фосфолипидов для лечения и профилактики социально-значимых заболеваний.

Одним из результатов такой работы стала разработка и внедрение в медицинскую практику лекарственного препарата «Фосфоглив®». Препарат Фосфоглив® для лечения заболеваний печени представлен в виде двух лекарственных форм: капсулы и лиофилизат для приготовления раствора для внутривенных инъекций. Внутривенная лекарственная форма препарата «Фосфоглив®» представляет собой лиофилизат фосфолипидных наночастиц (средний размер 50 ± 10 нм), стабилизированных глицирризиновой кислотой. Наночастицы такого размера эффективно доставляются в клетки печени для их репарации.

«Фосфоглив®» проявил себя как эффективный препарат при лечении хронических заболеваний печени – гепатитов и НАСГ. По данным Фармвестника (<https://phannvestnik.ru/apps/fv/res/gazeta-2018/927/21-3>) в 2010-2017гг. рынок «гепатопротекторов» составил более 14 млрд. рублей ежегодно, из которых 50% (7 млрд. рублей) приходилось на эссенциальные фосфолипиды.

В 2016 году Фосфоглив® вошёл в тройку лидеров рынка среди препаратов для лечения заболеваний печени. Объем продаж препарата Фосфоглив® в 2016 году составил 1,9 млрд. руб. (3,9 млн упаковок) (Источник: Ежегодный отчет, Фармстандарт 2016). По данным изданий Ремедиум, в 2018 г. объем продаж Фосфоглива® увеличился еще на 20%, по сравнению с 2017 годом.

Дальнейшие исследования новых лекарственных форм эссенциальных фосфолипидов привели к созданию нового лекарственного препарата «Витаглив®», порошок для приготовления раствора для применения внутрь в форме саше.

II. Разработка лекарственного препарата Витаглив®

Для производства препарата «Витаглив®»-саше разработана принципиально новая технология. В основе производства препарата Витаглив® лежит технология гомогенизации под высоким давлением 1500 атм, позволяющая получать смесь фосфолипидов и глицирризиновой кислоты в форме ультратонкой эмульсии с размером частиц до 60 нм. Последующая лиофилизация снижает процессы окисления при производстве, увеличивая срок хранения препарата. Такая лекарственная форма в виде саше, являясь аналогом внутривенной лекарственной формы препарата Фосфоглив®, существенно увеличивает биодоступность препарата Витаглив® и повышает его терапевтическую активность.

Композиция препарата Витаглив® и технология его получения защищены отечественными и зарубежными патентами:

1. Патент РФ № 2463057 «Наноформа фосфолипидного препарата для перорального применения (САШЕ) и способ ее получения (варианты)».
2. Патент США WO 2007/020505 A2, номер заявки 12/063,581 от 09.06.2008 (решение о выдаче патента 25.09.2013).
3. Свидетельство на товарный знак № 2018740462 от 2018-09-19.

III. Характеристика лекарственного препарата Витаглив®

Торговое название: Витаглив®

МНН: фосфолипиды и глицирризиновая кислота

Лекарственная форма: порошок для приготовления раствора для приема внутрь

Состав:

Один мини-пакет (саше), 2,5 г содержит - активное вещество: высокоочищенный фосфатидилхолин 500 мг и тринатриевая соль глицирризиновой кислоты 200 мг в форме мицелл ультрамалого размера с размером частиц 60 ± 5 нм; вспомогательное вещество: мальтоза 1800 мг.

Фармакотерапевтическая группа:

гепатопротекторное средство

Фармакодинамика: -

Показания к применению:

Неалкогольный и алкогольный стеатогепатит, вирусные гепатиты (в составе комплексной терапии).

Способ применения и дозы:

Прием по 1 пакету (саше) 2-3 раза в день, предварительно растворив в воде, в течение 1-3 месяцев. При необходимости продолжительность приема препарата может составить 6 месяцев и более.

Форма выпуска:

По 10 мини-пакетов (саше) в картонной упаковке с инструкцией по медицинскому применению.

IV. Доклинические и клинические исследования (КИ) препарата Витаглив®

При доклинических исследованиях было показано, что препарат Витаглив® является малотоксичным, ЛД50 не была достигнута, при исследовании хронической токсичности препарата (90 дней в дозах, превышающих терапевтическую в 50 и 100 раз) не было обнаружено побочных действий препарата. Местно-раздражающего действия препарата на слизистую оболочку ЖКТ установлено не было. Министерством Здравоохранения РФ разрешено проведение регистрационного клинического исследования по Протоколу III фазы для последующей регистрации препарата (экспертное заключение ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России № ЭЗ-62565).

V. Заключение

Пероральная лекарственная форма препарата Витаглив®-саше является аналогом и эквивалентом внутривенной лекарственной формы Фосфоглив® и превосходит его пероральную форму «Фосфоглив®-форте», применяемую в виде капсул. Препарат Витаглив® превосходит хорошо известные препараты эссенциальных фосфолипидов: Эссенциале, Эссливер и другие. Можно предположить, что тенденция к замещению этих фосфолипидных препаратов будет продолжена не только препаратом Фосфоглив®-форте, но и препаратом Витаглив®-саше.

В связи с этим ориентировочный объем рынка препарата Витаглив®-саше в первые 5-7 лет будет составлять не менее 1 млрд руб. в год с ростом до 2-3 млрд. руб. в год в течение последующего периода в ценах 2019 г.

Лекарственный препарат Фосфофеновир®

I Актуальность

Респираторные инфекции включают в себя перечень заболеваний, причиной которых является прямое воздействие инфекций различной природы на верхние дыхательные пути и паренхиму легких. В ряде случаев респираторные инфекции сопровождаются развитием острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), приводящего к высокой смертности[1].

Среди респираторных инфекции, в сочетании с ОРДС, наиболее часто встречающимися, являются вирусные инфекции, а именно грипп, цитомегаловирус, а в последнее время — коронавирус. Новая коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV-2, включена в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих (постановление Правительства Российской Федерации от 31 января 2020 г. № 66). Одной из основных мишеней SARS-CoV-2 являются альвеолярные клетки II типа (AT2) легких, что определяет развитие диффузного альвеолярного повреждения и ОРДС в связи с нарушением в них секреции и биосинтеза сурфактанта[2]. Инактивация сурфактанта при ОРДС происходит путем его разрушения липазами и протеазами, а также быстрая инактивация сывороточными белками, прежде всего альбумином и иммуноглобулинами[3]. В результате отсутствия сурфактанта структурные единицы легких спадаются, газообмен в них становится невозможным, кислород не насыщает кровь, что приводит к фатальной гипоксии.

Указанные выше механизмы повреждения альвеолоцитов и сурфактанта характерны для большинства вирусных пневмоний. Поэтому во время пандемии свиного гриппа 2009-2010 гг. были предприняты попытки использования сурфактантов, полученных от животных на фармакологических предприятиях, для лечения тяжелой дыхательной недостаточности. Этот метод приводил к восстановлению естественного сурфактанта, предупреждал спадение альвеол, улучшал оксигенацию. Кроме того, препараты сурфактанта блокируют рецепторы, которым фиксируются вирусы, а это значительно снижает их проникновение в альвеолоциты[4, 5].

В России создан и разрешен для медицинского применения отечественный препарат экзогенного сурфактанта (Сурфактант-БЛ) максимально близкий по своему химическому составу к натуральному сурфактанту человека. В Национальном медицинском исследовательском центре имени В. А. Алмазова Сурфактант-БЛ на протяжении десяти лет используется для лечения дыхательной недостаточности в послеоперационном периоде при кардиохирургических вмешательствах и для терапии тяжелых вирусных пневмоний.

Учитывая этот опыт и положительные результаты, полученные в России во время пандемии свиного гриппа, технология ингаляционного введения Сурфактанта-БЛ была использована в комплексном лечении тяжелой коронавирусной пневмонии[6].

Вместе с тем, существенным недостатком препарата экзогенных сурфактантов, и сурфактанта БЛ, в частности, является его производство с использованием легкого животного происхождения, что создает опасность дополнительного микробного и вирусного заражения, а также передачи трансмиссивной губчатой энцефалопатии. В связи с этим остро стоит вопрос создания биомиметика сурфактанта в лучшем случае растительного происхождения.

II Разработка препарата Фосфофеновир®

В ИБМХ разработан комбинированный биомиметик сурфактанта легких – препарат Фосфофеновир®, устойчивый к инаktivации и содержащий противовирусный агент для профилактики и лечения пневмоний вирусного происхождения, включая коронавирусную инфекцию. Препарат содержит насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты в составе фосфатидилхолина соевого растительного происхождения в виде наночастиц малого диаметра (до 50 нм), восстанавливающие альвеолоциты II типа и их природную функцию синтеза эндогенного сурфактанта.

Наночастицы фосфотидилхолина помимо восстановления синтеза сурфактанта альвеолоцитами II типа, также служат фармацевтическим носителем для доставки в легкие противовирусных агентов, как правило, имеющих гидрофобную природу и невысокую биодоступность. В качестве противовирусного агента может выступать умифеновир, ремдесивир, фавипиравир и другие противовирусные агенты, активные в отношении респираторных вирусов. Водосолюбиризованный наночастицами фосфатидилхолина противовирусный агент, используемый в качестве второго активного компонента лекарства, обладает улучшенной фармакокинетикой по сравнению с обычной субстанцией и, следовательно, обладает гораздо большей антивирусной активностью (патент РФ № RU 2411942 С2 от 05.09.2009 г.).

Препарат Фосфофеновир® может использоваться для перорального применения в виде саше, а также ингаляционного, эндотрахеального и внутривенного введения. Ингаляционный путь введения препарата с помощью роторного небулайзера является неинвазивным и при раннем начале лечения может предотвращать прогрессирование респираторного дистресс-синдрома и госпитализацию тяжёлых пациентов с целью искусственной вентиляции легких. Аэрозоль фосфолипидных наночастиц, позволяет препарату быстро проникать в легкие и инкорпорироваться в состав альвеолоцитов II типа.

Предполагается, что комплексный биомиметический подход, основанный на высокой репарирующей активности фосфолипидных частиц, содержащих водосолюбилизованный умифеновир, позволит создать принципиально новый лекарственный препарат Фосфофеновир® для лечения пневмоний вирусного происхождения, включая и коронавирус.

В ИБМХ разработан опытно-промышленный регламент получения комбинированного биомиметика сурфактанта Фосфофеновира®. Получено свидетельство на торговую марку Фосфофеновир® (№2020722986 от 06.05.2020 г., №2020735837 от 09.07.2020 г.). Подана заявка на изобретение (№ 2020122730). Для окончания работы и получения разрешения на клинические испытания препарата Фосфофеновир®, необходимо завершить его фармакологические и доклинические исследования.

1. Чучалин А.Г. Пульмонология. Национальное руководство. М. ГЕОТАР-Медиа, 2016. – 800с. ISBN 978-5-9704-3787-2.

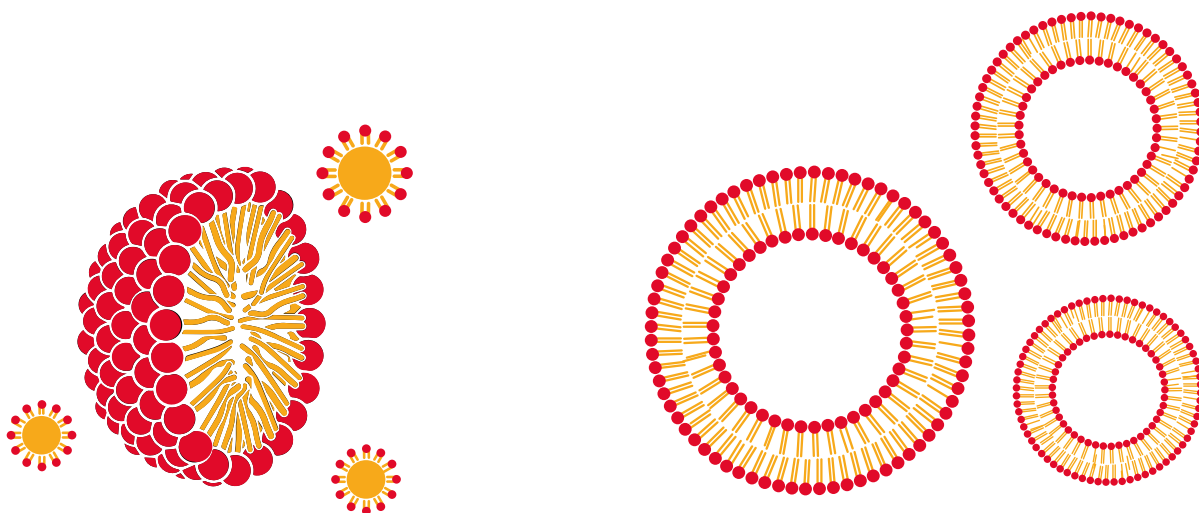
2. Takano H. Pulmonary surfactant itself must be a strong defender against SARS-CoV-2. *Med Hypotheses*. 2020 Nov; 144:110020. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110020. Epub 2020 Jun 20. PMID: 32590326.
3. Seeger W, Günther A, Walmrath HD, Grimminger F, Lasch HG. Alveolar surfactant and adult respiratory distress syndrome. Pathogenetic role and therapeutic prospects. *Clin Investig*. 1993 Mar;71(3):177-90. doi: 10.1007/BF00180100. PMID: 8481620; PMCID: PMC7096084.
4. Busani S, Girardis M, Biagioni E, Pasetto A, Sambri V. Surfactant therapy and intravenous zanamivir in severe respiratory failure due to persistent influenza A/H1N1 2009 virus infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Nov 15;182(10):1334. doi: 10.1164/ajrccm.182.10.1334. PMID: 21079271.
5. Алексеев А.М., Яковлев А.А., Швечкова М.В., Сейлиев А.А., Волчков В.А., Розенберг О.А. Сурфактант-терапия пневмонии и ОРДС, ассоциированных с вирусом А/Н1N1. *Забайкальский медицинский журнал*. 2011;(1): 23-7.
6. Баутин А.Е., Авдеев С.Н., Сейлиев А.А., Швечкова М.В., Мержоева З.М., Трушенко Н.В., Семенов А.П., Лапшин К.Б., Розенберг О.А. Ингаляционная терапия сурфактантом в комплексном лечении тяжелой формы COVID-19-пневмонии. *Туберкулез и болезни легких*. 2020;98(9):6-12.

ФОСФОЛИПИДНАЯ МИЦЕЛЛЯРНАЯ ТРАНСПОРТНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ

Фосфолипидным наночастицам в последние годы уделяется особое внимание, т.к. они биodeградируемы, биологически инертны, не вызывают аллергических, анти-генных или пирогенных реакций. Благодаря своей химической структуре эти частицы способны служить переносчиками нерастворимых в воде (гидрофобных) лекарственных препаратов, которые составляют около 75% всех лекарственных соединений. Получение лекарственных композиций на основе фосфолипидов с использованием современных технологий дает возможность разрабатывать новые формы с высокой терапевтической эффективностью, биодоступностью и сниженными неблагоприятными побочными действиями. Существует два типа фосфолипидных наночастиц: липосомы и мицеллы (см. Рис.1).

Рисунок 1 Структура фосфолипидных частиц

Липосомы представляют собой наночастицы с диаметром 100 нм и больше.



МИЦЕЛЛЫ

Отличительной их чертой является наличие липидного бислоя и водное внутреннее содержимое. Они широко используются в медицине в качестве транспортной системы для различного рода лекарств. Примерно 95-99% всех публикаций посвящены именно липосомам, как транспортной фосфолипидной системы. Фосфолипидные мицеллы, наоборот, очень редко используются в медицине и число публикаций об использовании их как в качестве транспортной системы, так и в виде фармакологически-активных препаратов крайне мало. Мицеллы в отличие от липосом содержат фосфолипидный монослой. Ядро их

ЛИПОСОМЫ

составляет жирно-кислотные цепи фосфолипидов и не содержат воды. Поэтому они являются осмотически неактивными и этим принципиально отличаются от липосом.

Фосфолипидные лекарственные композиции – это гомогенная ультрадисперсная наноэмульсия, стабильная при хранении и транспортировке. Критичным параметром при разработке и создании такой наносистемы является размер частиц: при диаметре 20-50 нм возрастает биодоступность препарата, изменяется его всасывание и распределение в организме, что, в итоге, способствует оптимизации фармакокинетики лекарства, повышению его терапевтической эффективности, снижению побочных действий.

В научно-исследовательском институте биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича (ИБМХ) разработана технология получения фосфолипидных мицелл со средним диаметром 20 нм в виде лиофильно высушенного порошка, стабильного при хранении. Показано, что наносистема на основе соевого фосфатидилхолина представляет собой универсальную систему для транспорта в организме гидрофобных лекарственных соединений. На основе этой наносистемы разработан ряд лекарственных композиций и показано, что эффективность активных субстанций, введенных в организм в составе фосфолипидных наночастиц, существенно превышает таковую для обычных форм. Организация производства для выпуска лекарственных композиций на основе фосфолипидной мицеллярной транспортной системы с помощью оригинальной технологии позволит обеспечить здравоохранение страны конкурентоспособными инновационными препаратами нового поколения.

Иновационные фосфолипидные препараты, разработанные в ИБМХ

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича (ИБМХ) имеет многолетний опыт работы в области исследований и разработки эффективных лекарственных средств на основе эссенциальных фосфолипидов.

Результатом такой работы стало внедрение в медицинскую практику лекарственного препарата «Фосфоглив» в виде нескольких лекарственных форм: капсулы и лиофилизат для приготовления раствора для внутривенных инъекций. Внутривенная лекарственная форма препарата Фосфоглив представляет собой лиофилизат фосфолипидных наночастиц (средний размер 60 нм), стабилизированных глицирризиновой кислотой. Наночастицы препарата эффективно репарируют мембраны гепатоцитов. Глицирризиновая кислота стимулирует продукцию интерферонов и оказывает противовирусное действие.

Фосфоглив проявил себя как эффективный препарат при лечении заболеваний печени как токсического, так и вирусного происхождения. В настоящее время препарат выпускается компанией Фармстандарт. В 2016 году Фосфоглив вошёл в тройку лидеров рынка среди препаратов для лечения заболеваний печени. Объем продаж препарата Фосфоглив в 2016 году составил 1,9 млрд. руб. (Ежегодный отчет, Фармстандарт 2016).

Одним из приоритетных направлений исследований ИБМХ в этой области является создание фосфолипидных препаратов для профилактики и лечения атеросклероза. В результате данных исследований была разработана оригинальная технология получения фосфолипидных мицелл, размер которых составляет примерно 30 нм. В качестве способа получения нанодисперстных эмульсий фосфолипидов выбран метод гомогенизации высокого давления, позволяющий быстро и воспроизводимо получать большие объёмы фосфолипидных наноэмульсий с малым размером частиц в строго контролируемых условиях. Фосфолипидные мицеллы такого размера избирательно сливаются с липопротеинами высокой плотности (HDL), увеличивают их функциональную активность и тем самым способствуют транспорту холестерина из периферических органов и тканей в печень с последующим окислением его в желчные кислоты и удалению из организма.

Описание технологии получения фосфолипидной мицеллярной системы

Разработанная технология получения стабильной при хранении фосфолипидной транспортной наносистемы и включения в ее состав различных лекарственных субстанций позволяет получать препараты в сухом лиофилизированном виде, восстанавливающие полностью свои физико-химические свойства, в том числе, размер – не более 30 нм, при регидратации. Технология позволяет в едином взаимосвязанном режиме получать препараты, от загрузки исходных веществ «на входе» до готового продукта «на выходе».

В основе технологии лежат 4 основных этапа:

1. гомогенизация под давлением 1500 атм.;
2. ультрафильтрация через фильтры с размером пор 220 нм;
3. лиофильная сушка;
4. упаковка в пакеты «саше» или флаконы.

На рисунке 2 представлена принципиальная технологическая схема.

Рисунок 2 Принципиальная технологическая схема производства фосфолипидных препаратов



Получение субстанции

- Первичная гомогенизация
- Получение наноэмульсий гомогенизацией или микрофлюидизацией
- Ультрафильтрация для стандартизации размера наночастиц и стерилизации препарата

Обработка субстанции
Получение препарата

- Стерильный розлив во флаконы
- Сушка
- Закатка и маркировка
- Упаковка

Упаковка препарата

В таблице 1 приведены результаты включения различных фармакологически активных субстанций в фосфолипидные мицеллы.

Таблица 1 - Характеристики лекарственных композиций на основе фосфолипидной мицеллярной системы транспорта

Субстанция	Размер частиц, нм	Содержание субстанции в 10 мл эмульсии (mg)	Процент встраивания субстанции (%)
Фосфолипидные мицеллы	19 ± 3		
Диклофенак	12 ± 2	21,4	94
Доксирубицин	17 ± 2	23	96
Будесонид	22 ± 5	22,5	100
Парацетамол	20 ± 2	25	43
Римантадин	18 ± 1	22	0
Преднизолон	18,4 ± 2	21	95
Хлорин Е6	21 ± 3	24	90
Интраконазол	25 ± 3	3	95
Метотрексат	21 ± 2	24	33
Нифедипин	24 ± 3	23	91
Курантил	22 ± 3	22	85
Паклитаксел	20 ± 3	2,3	99

Таблица 2. Экспериментальные препараты, прошедшие доклинические испытания. Характеристики композиций

Композиция	Светопротекание До/после фильтрования %	Диаметр частиц	Процент включения субстанции %	Дзета потенциал, мВ	Фармакологическое действие
Фосфолипидные мицеллы	68,3/70,4	19+3		-47+2	
Доксорубицин	75,0/80,6	17+2	96	7+1,1	Противоопухолевое
Преднизолон	3,0/62,0	18+2	95	-24+2	Противовоспалительное/противоаллергическое
Будесонид	2,0/60,0	22+5	100	3,74+0,5	Противовоспалительное/противоаллергическое
Умифеновир	80/83	8+3	98	18+3	Противовирусное
Рифампицин	76/82	16+2,6	90	-36+6,3	Противотуберкулезное
Хлорин Е6	75/80	21+3	90	23,3+6,6	Фотодинамическая терапия

Для обеспечения стабильного качества изготовления новых форм лекарств должен быть организован контроль выпускаемой продукции, в соответствии с нормами и

количественными показателями, заложенными в разработанной нормативно-технической документации, утверждённой МЗ РФ.

К основным нормативным показателям относятся:

- отсутствие у фосфолипидных мицелл токсичности и способности вызывать аллергические реакции;
- при растворении в воде образование фосфолипидных частиц должно происходить в течение 3 минут;
- содержание лизофосфатидилхолина во всех препаратах не должно превышать 6%;
- прозрачность раствора - не менее 60%;
- средний стандартный диаметр фосфолипидных мицелл не должен превышать 30 нм;
- включение лекарственных субстанций в фосфолипидные мицеллы должно составлять не менее 80%;
- соотношение фосфолипид/лекарственная субстанция должно быть не более 100:1;
- остаточная влажность препаратов - не более 2,5 %;
- рН - 6,5 - 7,6;
- готовая форма – в виде лиофильно высушенного порошка.

Организация производства для выпуска лекарственных композиций на основе фосфолипидной мицеллярной транспортной системы с помощью оригинальной технологии позволит обеспечить здравоохранение страны конкурентоспособными инновационными препаратами нового поколения.

Фармакологически активные препараты на основе фосфолипидной мицеллярной системы

Коллективом авторов ИБМХ разработан ряд препаратов на основе хорошо известных в медицинской практике лекарственных субстанций, обладающих низкой биодоступностью и плохой водорастворимостью. Разработанные препараты находятся на разных стадиях доклинических и клинических исследований. Ниже приведены характеристики препаратов.

Доксорубицин – противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда, выделенный из культуры *Streptomyces peuceticus* var. *caesius*. Антрациклины, в частности доксорубицин, получили широкое применение в клинической онкологии. Являясь базовым препаратом для многих высокоэффективных комбинаций, доксорубицин по-прежнему остается стандартом для сравнения эффективности и безопасности других лекарственных препаратов данной фармакологической группы. Однако его применение сопряжено с развитием выраженных побочных эффектов, в некоторых случаях требующих деления доз или отмены препарата. В доклинических исследованиях на модели карциномы лёгкого Lewis было показано, что эффективность доксорубицина, снабженного фосфолипидной наносистемой транспорта в 5 раз превышала специфическую активность свободного доксорубицина. Терапевтическая эффективность доксорубицина, снабженного системой транспорта выражалась в существенном (на 40%) торможении роста опухоли уже на 6 день лечения.

Преднизолон является одним из сильнейших противовоспалительных, противошоковых и антиаллергических препаратов, входящим в список жизненно-необходимых лекарств и используемым при лечении свыше 100 распространенных заболеваний, в том числе и онкологических. В предварительных исследованиях показано, что биодоступность и специфическая активность пероральной и инъекционной форм преднизолона увеличились в 3-4 раза, что в дальнейшем позволит снизить терапевтическую дозу, практически в 2 раза.

Будесонид – глюкокортикоидное лекарственное средство противовоспалительного противоаллергического, антиэкссудативного и противоотечного действия. Он входит в список жизненно-необходимых лекарств как средство для лечения обструктивных заболеваний дыхательных путей для ингаляционного введения (индекс R03B). В популяции такими заболеваниями страдают 11-13% людей. Будесонид обладает наибольшей эффективностью при лечении таких заболеваний вследствие высокого (в 15 раз выше по сравнению с преднизолоном) сродства к глюкокортикоидным рецепторам. Однако вследствие его низкой растворимости (применяется в виде порошка для сухой ингаляции - набулайзер) только 20-25% активной субстанции попадает в альвеолы, быстро всасывается

из легких в ЖКТ, при этом в системный кровоток попадает 10%. При ингаляционном введении в кровоток попадает до 20%. Таким образом, биодоступность будесонида при использовании имеющихся лекарственных форм крайне низка. К тому же лекарство может вызывать характерные для глюкокортикоидов побочные эффекты.

В предварительных исследованиях на модели бронхоальвеолита у крыс показан более выраженный эффект после лечения будесонидом, снабженным системой транспорта, чем препаратом «Пульмикорт®» (АстраЗенека, Швеция).

Умифеновир - отечественный препарат для лечения и профилактики гриппа А и В, острых респираторных вирусных инфекциях (ОРВИ) негриппозной этиологии. Биомишенью является поверхностный белок вируса гемагглютинин. В результате взаимодействия с умифеновиром конформационная лабильность его резко падает, ингибируя процесс слияния липидной оболочки вируса с мембранами клеток хозяина и, следовательно, высвобождение вирусного нуклеокапсида и начало транскрипции вирусного генома. Таким образом, механизм вирусоспецифического действия заключается в воздействии на ранние стадии вирусной репродукции.

Установлено, что умифеновир индуцирует выработку эндогенного интерферона. Однако, умифеновир – водонерастворимое соединение и обладает чрезвычайно низкой биодоступностью. В предварительных экспериментах доказано, что разработанная лекарственная композиция умифеновира, включенного в фосфолипидные наночастицы, как пероральной, так и инъекционной форм, хорошо растворима в воде с образованием ультратонкой дисперсии, отличается оптимизированной фармакокинетикой: в 6-8 раз увеличивается биодоступность, возрастает время циркуляции в кровотоке, изменяется распределение по тканям и др. Исследование на модели гриппозной пневмонии мышей показано, что, примерно в 3 раза повышается специфическая (терапевтическая) активность, существенно снижаются токсические характеристики.

Рифампицин – антибиотик, продуцируемый *Streptomyces rifamycinica*. Принадлежит к семейству ансамицинов. Рифампицин является одним из ключевых препаратов в терапии туберкулёза. Его аналоги – рифабутин и рифапентин - единственные препараты, которыми за последние несколько десятилетий пополнился список противотуберкулёзных средств. Применение рифампицина позволило сократить время лечения в 2 раза (с 18 до 9 месяцев). Кроме того, рифампицин сегодня отмечен как один из немногих препаратов, способных лечить широко распространённую латентную форму туберкулёза. Несмотря на высокую эффективность рифампицина, он имеет ряд существенных недостатков, ограничивающих его использование. Например, выраженные побочные действия, обуславливающие плохую переносимость лекарства у многих

пациентов, очень низкую растворимость в воде, что не позволяет использовать высокие дозы препарата.

В ИБМХ разработаны две готовые формы рифампицина, снабженного фосфолипидной наносистемой транспорта (пероральная и инъекционная). В ходе доклинических исследований показано существенное увеличение биодоступности – в 8 раз – при пероральном введении по сравнению со «свободной» субстанцией. На модели экспериментального генерализованного туберкулеза у мышей показано увеличение специфической активности препарата, а именно 10 - кратное снижение концентрации микобактерий в легких – для пероральной формы и 8-кратное для инъекционной формы.

Хлорин Е6 – фотосенсибилизатор второго поколения, предназначенный для флуоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии (ФДТ) злокачественных опухолей. Хлорин Е6 является одним из наиболее успешно используемых фотосенсибилизаторов для лечения рака и других новообразований методом фотодинамической терапии (ФТД). Хлорин Е6 обладает рядом спектральных, физико-химических и энергетических характеристик, выгодно отличающих его от других фотосенсибилизаторов. Однако, препараты на основе хлорина Е6 имеют ряд недостатков, которые ограничивают их широкое потребление, (1) небольшой срок хранения и потеря оптических свойств; (2) существует только жидкая форма препарата; (3) медленное выведение из организма и др. В ходе доклинических исследований показано, снижение в 2 раза времени выведения хлорина Е6, снабженного системой транспорта, из кожи, мышц и жировой ткани по сравнению с препаратом Радахлорин, что свидетельствует о снижении кожной токсичности.

Таким образом, разработана концепция получения с помощью фосфолипидных мицелл водорастворимых фармакологически активных препаратов из водонерастворимых. Причем сами мицеллы выступают в качестве фармакологически активного компонента, репарируя клетки, в которые они попадают в первую очередь печень, легкие, почки и т.д.