

ISSN 1609-1175

Тихоокеанский Медицинский Журнал

PACIFIC MEDICAL JOURNAL

2014, № 2

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 1997 году
Выходит один раз в три месяца

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ



Издательство
МЕДИЦИНА ДВ

Главный редактор В.Б. Шуматов

Редакционная коллегия:

Н.Н. Беседнова, Б.И. Гельцер, А.И. Дубиков, Е.В. Елисеева, Ю.В. Каминский, Е.В. Крукович, Ю.В. Кулаков, А.В. Ларюшкина (отв. секретарь), П.А. Лукьянов, В.Н. Лучанинова, В.И. Невожай, В.А. Невзорова (зам. главного редактора), К.В. Стегний, Л.В. Транковская, В.Б. Туркутюков, Ю.С. Хотимченко, В.М. Черток (зам. главного редактора), В.В. Шапкин, А.Д. Юцковский

Редакционный совет:

А.С. Белевский (Москва), А.Ф. Беляев, А.В. Гордеев, Ю.И. Гринштейн (Красноярск), С.Е. Гуляева, Н.А. Догадина, В.А. Иванис, Ю.И. Ишахтин, В.П. Колосов (Благовещенск), Ю.Ю. Первов, В.А. Петров, В.Ю. Мареев (Москва), В.Я. Мельников, П.А. Мотавкин, А.А. Полежаев, Б.Я. Рыжавский (Хабаровск), Л.М. Сомова, Г.И. Суханова, Л.Н. Трусова, Jin Liang Hong (КНР), Moon oh Riin (Республика Корея), Yamamoto Masaharu (Япония), Zhao Baoshang (КНР)

Научный редактор О.Г. Полушин

«Тихоокеанский медицинский журнал», 2014, № 2 (56)

<p>Тихоокеанский медицинский журнал Учредители: Тихоокеанский государственный медицинский университет, Департамент здравоохранения администрации Приморского края, НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Краевой клинический центр охраны материнства и детства <i>Свидетельство о регистрации</i> <i>Министерства РФ по делам печати,</i> <i>телерадиовещания и средств массовых</i> <i>коммуникаций</i> ПИ № 77-13548 от 20.09.2002 г.</p>	<p>Адрес редакции: 690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 4, Тихоокеанский государственный медицинский университет Тел./факс: +7 (423) 245-77-80</p> <p>Редактор И.М. Забавникова</p> <p>Зав. редакцией Т.А. Кожевникова Технический редактор Е.С. Чикризова Тел.: +7 (423) 245-56-49</p> <p>Корректор И.М. Луговая</p>	<p>Издательство «МЕДИЦИНА ДВ» 690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 4; тел.: 245-56-49; e-mail: medicinadv@mail.ru</p> <p>Подписано в печать 23.05.2014 г. Печать офсетная. Формат 60×90/8 Усл. печ. л. 13,5. Заказ № 851. Тираж 1000 экз.</p> <p>Отпечатано ИД «Принт-Восток» в типографии № 1 г. Харбин (Китай)</p> <p>Цена свободная</p>
---	--	---

Выпуски «Тихоокеанского медицинского журнала» доступны на сайтах <http://tmj-vgmu.ru>, <http://elibrary.ru> и <http://vgmu.ru>
Правила оформления статей и сведения об авторах публикаций находятся на сайтах <http://tmj-vgmu.ru>, <http://vgmu.ru>

Передовые статьи

Хотимченко Ю.С.

Углеводные биополимеры для адресной доставки белковых препаратов, нуклеиновых кислот и полисахаридов..... 5

Обзоры

Вахрушев Н.А., Елисеева Е.В., Шмыкова И.И., Романченко Е.Ф.
Венозные тромбозомболические осложнения после
тотального эндопротезирования коленного сустава
у пациентов с остеопорозом..... 14

Оригинальные исследования

Иваненко Н.В., Ковековдова Л.Т.

Микроэлементный состав лекарственных растений
Приморского края..... 18

Зорикова О.Г., Маняхин А.Ю., Янов А.В.

Диагностические признаки листьев *Patrinia rupestris* 21

Тыртышная А.А., Зозуля А.А.

Влияние периферически-индуцированного
нейровоспаления на когнитивные функции у молодых
и старых мышей..... 23

Маняхин А.Ю., Зорикова О.Г., Назаров Д.С.

Химический состав патринии скальной 26

Черняк Д.М., Титова М.С.

Антистрессорное действие дальневосточных растений 28

Сонькин К.М., Станкевич Л.А., Хоменко Ю.Г.,
Нагорнова Ж.В., Шемякина Н.В.Классификация электроэнцефалографических
паттернов вообразяемых и реальных движений
пальцев одной руки методом опорных векторов..... 30

Волкова Ю.С., Слободенюк Е.В.

Антимикробные препараты для системного
применения на фармацевтическом рынке г. Хабаровска:
фармакоэкономический анализ 35Крылова С.Г., Зорилов П.С., Зуева Е.П., Разина Т.Г.,
Амосова Е.Н., Рыбалкина О.Ю.Экспериментальное исследование анальгетической
активности экстракта аконита Кузнецова 38

Колдаев В.М.

Спектрофотометрические параметры
извлечений из цикория 41Дюйзен И.В., Балашова Т.В., Ламаш Н.Е., Мнацаканян Л.А.,
Сосин А.А., Быков А.О., Шуматов В.Б.Особенности анальгетического действия агматина
в модели тонической воспалительной боли..... 43

Титова М.С.

Сравнительный анализ накопления каротиноидов в хвое..... 48

Ефимова Л.А., Крылова С.Г., Зуева Е.П., Красноженов Е.П.,
Хотимченко Ю.С.Исследование антихеликобактерного действия
некрахмального полисахарида пектата кальция *in vitro* 50Доровских В.А., Ли О.Н., Симонова Н.В., Штарберг М.А.,
Доровских В.Ю.Антиоксидантные свойства препаратов на основе янтарной
кислоты при тепловом воздействии на организм 53

Храмова И.А., Слюсарева Е.Е., Антонюк М.В.

Влияние йодобромных ванн на клетки макрофагальной
системы женщин с климактерическим синдромом..... 56

Плаксен Н.В., Степанов С.В., Устинова Л.В.

Гепатопротекторное действие сиропа из плодов
вакциниума превосходного..... 59

Степанов С.В., Устинова Л.В., Плаксен Н.В.

Разработка косметических средств на основе природных
биологически активных веществ Камчатского края 61Огурцова О.С., Манжуло И.В., Латышев Н.А., Касьянов С.П.,
Дюйзен И.В.Нейропротекторное действие докозагексаеновой
кислоты при моделировании компрессионной
спинальной травмы 64Магомедов М.М., Магомедова З.А., Нурмагомедова П.М.,
Рабаданов Ш.Х., Магомедов М.А.Эндолимфатическая лекарственная терапия при
распространенном перитоните, осложненном синдромом
системной воспалительной реакции 70

Петрова Л.И., Юцковский А.Д.

Медико-социальное исследование лиц молодого
трудоспособного возраста, страдающих
инфекциями, передаваемыми половым путем,
в Республике Саха (Якутия) 74

Кушнерова Н.Ф., Кропотов А.В., Фоменко С.Е., Момот Т.В.

Влияние интоксикации оксидами азота на состояние
липидно-углеводного обмена печени и возможности
фармакопрофилактики гепатозов..... 77

Методика

Зорилов П.С., Колдаев В.М.

Оптические свойства настоек плодов
расторпши пятнистой..... 80Хожаенко Е.В., Хотимченко Р.Ю., Ковалев В.В.,
Подкорытова Е.А., Хотимченко М.Ю.Разработка метода стандартизации
низкомолекулярных пектинов..... 83Ковалев В.В., Хотимченко Р.Ю., Подкорытова Е.А.,
Хожаенко Е.В.Разработка технологии быстрорастворимой формы
альгината натрия 88

Организация здравоохранения

Гайнуллина Ю.И., Владыкина Т.В.

Практические врачи о стандартизации
антибактериальной терапии 92

Панурин В.Н., Шмыкова И.И.

Проблемы экономического и правового регулирования
отношений участников системы обязательного
медицинского страхования 95Гамаюнов С.В., Шахова Н.М., Денисенко А.Н.,
Корчагина К.С., Гребенкина Е.В., Скребицова Р.Р.,
Каров В.А., Терехов В.М., Терентьев И.Г.Фотодинамическая терапия – преимущества новой
методики и особенности организации службы 101

Наблюдения из практики

Аргунова Е.Ф., Иванова О.Н., Гуринова Е.Е., Алексеева С.Н.

Синдром Элерса–Данлоса у ребенка 6 лет..... 105

Некрологи

Геннадий Николаевич Бездетко..... 107

Editorials

Khotimchenko Yu.S.

Carbohydrate biopolymers for targeted delivery of protein drugs, nucleic acids and polysaccharides 5

Reviews

Vakhrushev N.A., Eliseeva E.V., Shmykova I.I., Romanchenko E.F.

Venous thromboembolic complications after total knee joint arthroplasty in patients with osteoporosis 14

Original Researches

Ivanenko N.V., Kovekovdova L.T.

Trace element composition of medicinal plants of Primorsky Territory 18

Zorikova O.G., Manyakhin A.Yu., Yanov A.V.

Diagnostic features of *Patrinia rupestris* leaves 21

Tyrtyschnaya A.A., Zozulya A.A.

Effect of peripherally-induced neuroinflammation on cognitive function in young and old mice 23

Manyakhin A.Yu., Zorikova O.G., Nazarov D.S.

The chemical composition of *Patrinia rupestris* 26

Chernyak D.M., Titova M.S.

Anti-stress effect of the Far Eastern plants 28

Sonkin K.M., Stankevich L.A., Khomenko Yu.G.,

Nagornova Zh.V., Shemyakina N.V.

Classification of electroencephalographic patterns of imagined and real movements by one hand fingers using the support vectors method 30

Volkova Yu.S., Slobodenyuk E.V.

Antimicrobials for systemic use in the pharmaceutical market in Khabarovsk: pharmacoeconomic analysis 35

Krylova S.G., Zorikov P.S., Zueva E.P., Razina T.G.,

Amosova E.N., Rybalkina O.Yu.

Experimental study of the analgesic activity of *Aconitum Kuznezoffi* Reichenb. 38

Koldaev V.M.

Spectrophotometric parameters of *Cichorium* extracts 41

Dyuyzen I.V., Balashova T.V., Lamash N.E.,

Mnatsakanyan L.A., Sosin A.A., Bykov A.O., Shumatov V.B.

Features of agmatine analgetic effect in the model of tonic inflammatory pain 43

Titova M.S.

Comparative analysis of the magnification of carotenoids in needles 48

Efimova L.A., Krylova S.G., Zueva E.P.,

Krasnozhenov E.P., Khotimchenko Yu.S.

The study of anti-*Helicobacter pylori* effect of calcium pectate non-amyloid polysaccharide *in vitro* 50

Dorovskikh V.A., Lee O.N., Simonova N.V.,

Shtarberg M.A., Dorovskikh V.Yu.

The antioxidant properties of the preparations based on succinic acid during thermal effect on a body 53

Khranova I.A., Slyusareva E.E., Antonyuk M.V.

Effect of iodide-bromine baths on the macrophage system cells in women with climacteric syndrome 56

Plaksen N.V., Stepanov S.V., Ustinova L.V.

Hepatoprotective effect of *Vaccinium praestans* syrup 59

Stepanov S.V., Ustinova L.V., Plaksen N.V.

Development of cosmetics based on natural biologically active substances of Kamchatka Territory 61

Ogurtsova O.S., Manzhulo I.V., Latyshev N.A.,

Kasyanov S.P., Dyuyzen I.V.

Neuroprotective action of docosahexaenoic acid in the simulation of compression spinal cord injury 64

Magomedov M.M., Magomedova Z.A., Nurmagomedova P.M.,

Rabadanov Sh.Kh., Magomedov M.A.

Endolymphatic drug therapy for the diffuse peritonitis complicated by systemic inflammatory response syndrome 70

Petrova L.I., Yutskovskiy A.D.

Medico-social study of young working age persons suffering from sexually transmitted infections in the Republic of Sakha (Yakutia) 74

Kushnerova N.F., Kropotov A.V., Fomenko S.E.,

Momot T.V.

Effect of nitrogen oxides intoxication on the liver lipid-carbohydrate metabolism and probability of hepatosis pharmaco-prophylaxis 77

Methods

Zorikov P.S., Koldaev V.M.

Optical properties of *Silybum marianum* fruits tincture 80

Khozhaenko E.V., Khotimchenko R.Yu.,

Kovalev V.V., Podkorytova E.A., Khotimchenko M.Yu.

Development of a method of standardization for low-molecular pectins 83

Kovalev V.V., Khotimchenko R.Yu.,

Podkorytova E.A., Khozhaenko E.V.

Development of technology for quick-dissolving form of sodium alginate 88

Public Health Organization

Gaynullina Y.I., Vladykina T.V.

The practical medical doctors about standardization of antibacterial therapy 92

Panurin V.N., Shmykova I.I.

The problems of economic and legal regulation of relationships among the participants in compulsory health insurance system 95

Gamayunov S.V., Shakhova N.M., Denisenko A.N.,

Korchagina K.S., Grebenkina E.V., Skrebtsova R.R.,

Karov V.A., Terekhov V.M., Terentyev I.G.

Photodynamic therapy: the benefits of the new technique and service organization details 101

Practice Observations

Argunova E.F., Ivanova O.N., Gurinova E.E.,

Aleksseeva S.N.

Ehlers-Danlos syndrome in a child of 6 years 105

Obituaries

Gennady Nikolaevitch Bezdetko 107

УДК 615.3.032:577.11/.12

УГЛЕВОДНЫЕ БИОПОЛИМЕРЫ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ БЕЛКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ, НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И ПОЛИСАХАРИДОВ

Ю.С. Хотимченко

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17),
Школа биомедицины Дальневосточного федерального университета (690950, г. Владивосток, ул. Суханова, 8),
Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Ключевые слова: некрахмальные полисахариды, микросистемы, наносистемы, энтеральное введение.

CARBOHYDRATE BIOPOLYMERS FOR TARGETED DELIVERY OF PROTEIN DRUGS, NUCLEIC ACIDS AND POLYSACCHARIDES

Yu.S. Khotimchenko

*Institute of Marine Biology named after A. V. Zhirmunskiy
FEB RAS (17 Palchevskogo St. Vladivostok 690041 Russian
Federation), School of Biomedicine at Far Eastern Federal University
(8 Sukhanova St. Vladivostok 690950 Russian Federation), Pacific
State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950
Russian Federation)*

Summary. The article is devoted to a new scientific direction – development of systems for the specific delivery of proteins, nucleic acids and polysaccharides through tissue barriers. Attention is given to natural, non-toxic compounds constituting a group of carbohydrate biopolymers. The paper also describes the structure, physicochemical properties and pharmacological activity of pectins, alginates, chitosans, carrageenans, fucoidans and micro- and nanosystems based on these compounds. The author gives examples of the use of chitosan nanoparticles for enteral introduction of hormones, genes erythropoietin and heparin. The emphasis is put on the necessity for toxicological studies of new drug dosage forms.

Keywords: non-amyloid polysaccharides, microsystems, nanosystems, enteral introduction.

Pacific Medical Journal, 2014, No. 2, p. 5–13.

Достижения современных биомедицинских технологий и генной инженерии привели к появлению новых медицинских препаратов на основе белков, нуклеиновых кислот и полисахаридов, обладающих лечебными качествами, но в силу особенностей строения и физико-химических свойств требующих разработки специфических средств их доставки к органам-мишеням. Считается, что наиболее удобным, комфортным и относительно безопасным способом применения лекарственных средств является энтеральный путь введения. Однако биодоступность макромолекул при энтеральном введении крайне ограничена вследствие их низкой устойчивости в желудочно-кишечном тракте и слабой способности к прохождению через биологические мембраны и тканевые структуры кишечника. Затронутые проблемы ставят перед фармацевтической технологией задачу по разработке адекватных средств транспорта, которые, с одной стороны, должны защищать фармакологически активные макромолекулы от деградации в желудочно-кишечном тракте, а с другой – повышать их кишечную абсорбцию. В настоящей статье будут рассмотрены работы, посвященные

созданию новых способов и средств доставки на основе углеводных биополимеров.

Общие сведения о структуре, фармакологических и фармацевтических свойствах некрахмальных полисахаридов

Некрахмальные полисахариды, к которым относят пектиновые вещества, соли альгиновой кислоты, каррагинаны, фукоиданы, хитозаны и некоторые другие углеводные полимеры и их дериваты, составляют группу наиболее сложных органических соединений в природе, обладающих рядом общих химических и биологических свойств и нашедших применение в разнообразных областях, таких как пищевые технологии, биотехнология, фармацевтика и биоинженерия [1]. Структурную основу молекул некрахмальных полисахаридов образует длинная цепь из чередующихся остатков моносахаридов, находящихся, как правило, в пиранозной форме, соединенных друг с другом химическими связями, устойчивыми к гидролитическому действию амилаз слюнных и панкреатических желез млекопитающих. От основной цепи полисахарида на разных расстояниях друг от друга могут отходить боковые цепи различной степени разветвленности, состоящие из 2–10 и более моносахаридных остатков. Число пиранозных циклов в основной цепи полисахаридов может достигать нескольких сотен, а молекулярная масса – от 400 до 1000 кДа.

Хитозаны. Хитозан является полимером β -1,4-2-амино-2-дезоксид-*D*-глюкозы, который получают из хитина ракообразных и клеточных стенок грибов, насекомых или дрожжей путем частичного *N*-деацетилирования концентрированным раствором щелочи [32]. Химические структуры хитина и хитозана во многом схожи: хитин состоит из линейной цепи остатков ацетилглюкозамина, а хитозан представлен такой же полимерной цепью с удаленными ацетильными группами в количестве, необходимом для растворения в разведенных кислотах. Полимерные цепи хитина и хитозана состоят более чем из 5000 ацетилглюкозаминовых и глюкозаминовых остатков, соответственно, с молекулярной массой около 1000 кДа. Образовавшийся после деацетилирования хитозан имеет, как минимум, два преимущества перед хитином. Во-первых, чтобы растворить хитин, необходимо использовать высокотоксичные соединения, такие как хлорид лития и диметилацетамид, в то время как хитозан легко растворяется в разбавленных кислотах и, во-вторых,

Хотимченко Юрий Степанович – д-р биол. наук, профессор, зам. директора по науке ИБМ ДВО РАН, директор Школы биомедицины ДВФУ, профессор кафедры фармации ТГМУ; e-mail: yukhotimchenko@mail.ru

в молекуле хитозана присутствует большое количество свободных химически реактивных аминогрупп ($-\text{NH}_2$), которые являются активными центрами для многих химических реакций. Константа диссоциации (pK_a) хитозана составляет 6,3–7,0, и при снижении водородного показателя его молекула приобретает катионные свойства вследствие протонирования аминогрупп. Это дает возможность хитозану эффективно связываться с отрицательно заряженными молекулами, включая молекулы жиров, липидов, холестерина, белка и макромолекулы. С целью увеличения химической реактивности хитозана применяются различные методы модификации, такие как карбоксиметилирование, карбоксиалкилирование, сульфонирование, «сшивание» и другие [30].

Пектины. Пектиновые вещества содержатся в клеточных стенках высших цветковых растений и в морских травах, относящихся к семейству *Zosteraceae*. Основная цепь пектинов состоит из 1,4-связанных остатков α -D-галактуроновой кислоты (α -D-галактопиранозилуруновой кислоты). Различают три типа пектинов: первый – линейный гомополимер (гомогалактуронан), второй – разветвленный полимер (рамногалактуронан I) и третий – замещенные галактуронаны, из которых наиболее часто встречается рамногалактуронан II. Гомогалактуронан состоит из остатков 1,4-связанной α -D-галактопиранозилуруновой кислоты, в которой от 8 до 74 % карбоксильных групп могут быть этерифицированы метиловым спиртом. Друг с другом гомогалактуронаны соединяются остатками α -L-рамнопиранозы, включенными в основную цепь 1,2-связью. Степень полимеризации гомогалактуронана составляет от 30 до 200. Рамногалактуронан I состоит из цепи повторяющегося дисахарида [$\rightarrow 4$]- α -D-галактопиранозилуруновая кислота-(1 \rightarrow 2)- α -L-рамнопираноза-(1 \rightarrow). От 20 до 80 % рамноз рамногалактуронана I могут быть замещены L-арабинозой, D-галактозой, L-арабинанами, галактанами или арабиногалактанами. Боковые ветви включают α -1,5- и α -1,3-связанные арабинаны, β -1,4-, β -1,3- или β -1,6-связанные галактаны и арабиногалактаны. Для пектина из морских трав характерно присутствие апиогалактуронана, в котором остатки D-апиозы присоединяются 1,2- и/или 1,3-связями к остаткам D-галактуроновой кислоты [1]. Молекулярная масса рамногалактуронана I из платана оценивается в 100–1000 кДа. Рамногалактуронан II состоит из основной цепи гомогалактуронана с четырьмя боковыми ветвями очень сложной структуры. В его состав могут входить до 12 различных типов сахаров. Структура пектинов позволяет получить множество вариантов соединений с разной биологической активностью. Различают высокометоксилированные и низкометоксилированные пектины. Первые характеризуются степенью этерификации более 50 % (обычно от 60 до 80 %), а вторые – менее 50 % (обычно 30–40 %).

Пектины могут быть водорастворимыми (или свободными) и водонерастворимыми в зависимости от

молекулярной массы и степени метоксилирования. На растворение влияют pH раствора, температура, природа и концентрация растворенных веществ. Одно из важных свойств пектинов – способность образовывать гель в присутствии ионов Ca^{2+} или сахара и кислоты. Гель формируется в результате образования непрерывной трехмерной сети полимерных молекул, поперечно связанных друг с другом в жидкой среде. В чистых пектиновых гелях такой жидкой фазой является вода. Прочность геля зависит от показателей полимеризации, метоксилирования и ацетилирования и от наличия боковых цепей из нейтральных сахаров. Образование геля в высокометоксилированных пектинах обеспечивают водородные связи и гидрофобные взаимодействия между галактуронановыми цепями. Желирование низкометоксилированных пектинов происходит в результате образования в зоне контакта пектиновых молекул ионных связей через кальциевые мостики между карбоксильными группами двух разных цепей. Прочность контакта усиливается благодаря образованию водородных связей между кислородными атомами гидроксильных групп и пиранозного кольца с ионами Ca^{2+} . Взаимодействие между ионами Ca^{2+} и цепями полигалактуроновой кислоты описывается моделью egg-box («упаковка для яиц»), предложенной для альгинатов [6]. Присутствие метиловых групп предотвращает образование зон контакта, а боковые цепи в молекулах пектина препятствуют их агрегации. Наоборот, чем больше свободных карбоксильных групп и чем меньше боковых цепей, тем более вероятно формирование кальциевых мостиков. В целом, скорость образования геля и его прочность зависят от степени метоксилирования пектина, концентрации кальция в растворе и pH раствора.

Пектиновый матрикс пригоден для изготовления дозированных лекарственных форм: таблеток, гранул, пеллет и микрочастиц. Разработаны лекарственные формы на основе пектинов с 5-фторурацилом, метотрексатом, противовоспалительными и анальгетическими средствами и ферментами [41]. Кроме этого, пектины могут использоваться для пероральной, назальной и вагинальной доставки лекарств [27].

Альгинаты. Альгиновая кислота и ее соли (альгинаты) присутствуют в морских бурых водорослях (*Phaeophyta*) и в красных водорослях семейства *Corallinaceae*. Кроме того, бактерии родов *Pseudomonas* и *Azotobacter* содержат ацетилированные альгинаты. Альгинаты состоят из остатков β -D-маннуриновой и α -L-гулуриновой кислот, соединенных 1,4-связью. Полимерные цепи, состоящие из маннуриновой кислоты, и цепи, состоящие из гулуриновой кислоты, представляют собой разные структуры, поэтому соотношение кислот определяет физические свойства альгинатов и их реактивность. Полиманнуриновая кислота образует плоскую в виде ленты цепь с расстоянием между повторяющимися участками, равными 10,35 Å, и вмещает β -D-маннуриновые остатки в кресловидной конформации. Полигулуриновая кислота образует

стержневидную цепь с расстоянием между повторяющимися участками по 8,7 Å. Различия в молекулярной конформации двух гомополимеров определяют величину аффинитета альгинатов к ионам тяжелых металлов и способность к образованию геля [22].

Альгиновая кислота образует гели при связывании водорода при низких значениях pH (кислые гели) и при взаимодействии с одновалентными, двухвалентными (кальций, стронций) и трехвалентными (железо, алюминий) металлами, которые связывают близлежащие полимерные цепи. Для формирования геля требуется концентрация полисахарида в растворе не менее 0,2 %. Альгинатные гели термически необратимы. Вязкость раствора и прочность геля зависят от содержания урсонных кислот, температуры, pH и присутствия ионов металлов, прежде всего K^+ и Ca^{2+} . В альгинатных гелях соседние близко расположенные полисахаридные цепи формируют зоны контакта за счет водородных мостиков между карбоксильными группами, а ассоциация цепей происходит благодаря образованию связей с ионами кальция, которые располагаются между молекулами альгината (egg-box structure). Такая структура, сходная с моделью гелеобразования пектинов, формируется за счет образования ионно-координационных связей между карбоксильными и гидроксильными группами пиранозных циклов *L*-гулурановой кислоты соседних полимерных цепей и ионом металла. В то же время пространственная структура остатков β -*D*-маннурановой кислоты не укладывается в модель egg-box. Поэтому, желеобразующие свойства альгинатов обусловлены главным образом количеством и распределением остатков гулурановой кислоты в образцах альгинатов. Прочность геля линейно возрастает с увеличением молекулярной массы полисахарида до 400–500 кДа. Гель можно легко преобразовать в раствор путем добавления натрия, магния или этилендиаминотетрауксусной кислоты [4].

Альгинаты используются в качестве загустителей эмульсий, стабилизаторов, эмульсоров, полимерных носителей антигенов, ферментов, микробов, животных клеток, рекомбинантных генетических продуктов, как основа для костной и хрящевой тканевой инженерии, имплантатов для регенерации периферических нервов, раневых повязок. Для систем пероральной доставки альгинаты применяются в форме микросфер, микрокапсул, гелевых шариков, гидрогеля, пленок, наночастиц и таблеток. Для повышения стабильности форм, регуляции физико-химических свойств и скорости высвобождения лекарственных молекул альгинаты используются в виде сополимеров с поли-*N*-изопропиламидом, полиакриламидом, поли-натрий акрилатом, поли-бутилметакрилатом, поли-метакриламидом, α -метил-метакрилатом, α - и β -циклодекстринами, пропиленгликолем, додециламином и другими соединениями [42].

Техника микрокапсулирования на основе альгинатов предназначена главным образом для пероральной доставки белков. Белок инкапсулируется в

центральную часть, которая покрывается биосовместимой полупроницаемой мембраной, регулирующей скорость выхода белка и одновременно защищающей его от биodeградации. Благодаря мягким условиям желирования при нейтральных значениях водородного показателя альгинатный гель формирует центральный материал, а полиэтиленгликоль играет роль поверхностной мембраны. Хитозан/полиэтиленгликоль/альгинатные микрокапсулы уже используются для переноса антибиотиков, глюкокортикоидов и витаминов, а также для доставки альбуминов и гирудина [20].

Каррагинаны – это линейные сульфатированные галактаны, экстрагируемые из морских красных водорослей (Rhodophyta), содержащие *D*-галактозу и ее производные, остатки которых соединены чередующимися β -1,4- и α -1,3-связями [44]. Разнообразие каррагинанов обусловлено тем, что 4-*O*-замещенный остаток может быть как галактозой, так и ее 3,6-ангидропроизводным, гидроксильные группы которых могут быть сульфатированы. Регулярные полисахариды, молекулы которых построены из дисахаридных повторяющихся звеньев одного типа, получили собственные названия: κ -, λ -, ι -, ν -, μ - и θ -каррагинаны, различающиеся содержанием 3,6-ангидрогалактозы, местоположением и количеством сульфатных групп. Например, κ -каррагинан является дисахаридом 1,3-связанного β -*D*-галактопираноза-4-сульфата и 1,4-связанной 3,6-ангидро- α -*D*-галактозы, тогда как ι -каррагинан имеет ту же структуру, за исключением наличия дополнительной сульфатной группы во втором положении ангидрогалактозного остатка. Для большинства каррагинанов характерна молекулярная масса от 500 до 1000 кДа, при этом они могут содержать до 25 % полисахарида с молекулярной массой меньше 100 кДа. Вязкость водных растворов каррагинанов зависит от молекулярной массы, присутствия ионов и температуры. В основном каррагинаны образуют растворы с вязкостью от 25 до 500 миллипуаз, хотя нативный λ -каррагинан может давать растворы с вязкостью до 20 000 миллипуаз.

Способность каррагинана образовывать в водных растворах гели является одной из его наиболее важных физико-химических характеристик. Переход раствора в гель происходит за счет межмолекулярных взаимодействий, при которых каждая молекула полимера кооперативно ассоциируется с несколькими другими. В результате образуется единая трехмерная сетка, состоящая из молекул растворенного полимера и заключенного в ней большого количества растворителя. Гелеобразующие свойства каррагинанов зависят от их химической структуры, концентрации полимера, природы добавляемого катиона и температуры раствора. Главным условием гелеобразования является наличие в молекуле полисахарида остатков 3,6-ангидрогалактозы, которые придают полимерной цепи жесткость и обеспечивают спиральную конформацию. Обилие сульфатных групп препятствует межмолекулярной ассоциации, так как возникает электростатическое

отталкивание одноименных зарядов. При удалении сульфатов цепь выпрямляется, и формирование геля активизируется. Таким образом, желеобразующие свойства каррагинанов тем выше, чем меньше остатков серной кислоты содержится в полисахариде и чем больше в нем 3,6-*D*-ангидрогалактоз. Поэтому немодифицированные фракции μ -, ν - и λ -каррагинанов – нежелеобразующие, а κ - и ι - – желеобразующие, но в присутствии катионов определенного размера [44]. Натуральные каррагинаны в основном используются в качестве пищевых добавок, а в комбинации с синтетическими полимерами – для систем адресной доставки лекарств [20].

Фукоиданы составляют группу фукозосодержащих сульфатированных полисахаридов, обнаруживаемых во внеклеточном матриксе морских бурых водорослей, в яйцевых оболочках морских ежей и в стенке тела кукумарий. В зависимости от структуры главной цепи фукоиданы можно разделить, по крайней мере, на два типа. Фукоиданы I типа состоят из повторяющихся 1,3-связанных α -*L*-фукопиранозных остатков. Фукоиданы II типа построены из чередующихся 1,3- и 1,4-связанных остатков α -*L*-фукопиранозы. Главные цепи могут содержать как углеводные (глюкуроновая кислота, галактоза, глюкоза, манноза или ксилоза), так и неуглеводные (сульфатные и ацетильные группы) компоненты, различающиеся по составу и количеству у разных водорослей. Молекулярная масса нативных фукоиданов составляет 200–500 кДа. Их свойства и биологическая активность во многом определяются количеством и расположением сульфатных групп [29].

Наночастицы на основе фукоидана могут быть получены с помощью самого фукоидана, в комбинации его с другими полисахаридами или с синтетическими полимерами. Самоорганизующиеся наночастицы ацетилированного фукоидана формируют сферические структуры диаметром около 140 нм и используются в качестве новой лекарственной формы для иммунотерапевтических и химиотерапевтических средств [21]. В комбинации с хитозаном сверхсульфатированный фукоидан применяется для создания наночастиц, предназначенных для оральной доставки антиангиогенных макромолекул. Эти частицы усиливают трансцеллюлярный транспорт фукоидана и способствуют открытию плотных контактов между модельными клетками Caco-2. С помощью методов анион-эмульсионной полимеризации и редокс-радикал-эмульсионной полимеризации получают наночастицы, в которых фукоидан используется как покровный материал для изобутилцианоакрилата [24].

Для большинства исследованных полисахаридов описаны фармакологические эффекты, заслуживающие внимания в плане создания новых фармацевтических субстанций. Так, пектины, альгинаты и хитозаны оказывают умеренное гипохолестеринемическое, гипотриглицеридемическое и антиоксидантное действие. Фукоидан, пектины и альгинаты обладают гепатопротекторными и нефропротекторными свойствами. В экспериментальных исследованиях и клинических наблюдениях была

доказана терапевтическая эффективность пектинов при инфекционной патологии, проявляющаяся в снижении явлений интоксикации [2, 18]. У пектинов и хитозанов описаны бактерицидный и фунгицидный эффекты, а у фукоиданов и каррагинанов – противовирусная активность, которая сочетается с иммуностимулирующим эффектом и способностью к индукции синтеза интерферонов [3]. Помимо этого, у фукоиданов и каррагинанов установлена антикоагулянтная активность, которая у высокосульфатированных фукоиданов сопоставима с таковой препаратов гепарина [9]. Фукоидан в большей степени низкомолекулярные фукоиданы проявляют антиагрегантные свойства. Ряд работ демонстрирует противоопухолевую и антиметастатическую активность пектинов, альгинатов и фукоидана [23]. Есть данные о противоопухолевой активности и каррагинанов, хотя имеются факты, указывающие на их онкогенное действие. Перспективными препаратами для лечения и профилактики язвенной болезни представляются фукоиданы и соли пектинов, которые, с одной стороны, обладают антипептическими и противовоспалительными свойствами, а с другой, препятствуют адгезии *Helicobacter pylori* на мембранах эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка [34].

Важным свойством некоторых некрахмальных полисахаридов является способность связывать и выводить из организма человека тяжелые металлы, в том числе радионуклиды. Сравнительные исследования по оценке свойств различных сорбентов показали, что максимальная сорбционная емкость низкометоксилированного пектина, альгината натрия и альгината кальция по отношению к ионам свинца, меди, кадмия и ртути в 5–10 раз и более превышает таковую активированного угля, микрокристаллической целлюлозы, полифепана, сплата или энтеросорба [14–17]. Поэтому производные пектинов и альгинатов рассматриваются в ряду перспективных фармацевтических субстанций для создания лекарственных средств, предназначенных для выведения тяжелых металлов и радионуклидов из организма человека [18].

Транспортные системы на основе углеводных биополимеров

Новое перспективное направление исследований посвящено разработке носителей крупных молекул через тканевые барьеры. Одним из первых на роль транспортного средства был предложен хитозан. Наночастицы на основе хитозана и его дериватов способны защитить макромолекулы от кислотной денатурации и ферментной деградации, обладают мукоадгезивными свойствами и пролонгируют время нахождения макромолекул в тонкой кишке. Более того, хитозан способен запускать обратимое открытие плотных контактов между эпителиальными клетками, тем самым облегчая параклеточный транспорт крупных гидрофильных соединений [38]. Мукоадгезивные свойства хитозана и способность инициировать открытие плотных контактов строго зависят от степени протонирования его молекулы. Так как константа ионизации аминных групп на хитозане

составляет 6,5, то в кислой среде он становится протонированным и, вследствие этого – растворимым, но агрегирует при нейтральных значениях pH. Исходя из этого, следует ожидать, что сам хитозан может быть эффективным как мукоадгезивный агент и усилитель абсорбции только в ограниченной области кишечного просвета, где водородный показатель ниже или близок к его pK_a (например, в двенадцатиперстной кишке). Поэтому необходимы исследования по изменению химических свойств хитозана с целью улучшения его растворимости и повышения абсорбционной способности в среде с нейтральными значениями pH.

Механизмы транспорта макромолекул через кишечный эпителий. Кишечный эпителий, являющийся основным барьером для абсорбции макромолекул из кишечного просвета в системный кровоток, состоит из энтероцитов, бокаловидных клеток и М-клеток. Самые обильные клетки в слое кишечного эпителия, энтероциты, являются специализированными, ответственными за перенос нутриентов через биологические мембраны путем активного транспорта или пассивной диффузии. Вторыми по численности являются бокаловидные клетки, которые способны секретировать слизь, образуя физический барьер для патогенных факторов. Так называемые М-клетки представляют собой специализированные эпителиальные элементы, находящиеся, преимущественно, в пейеровых бляшках подвздошной кишки. В отличие от энтероцитов М-клетки могут поглощать антигены и микроорганизмы из кишечного просвета и доставлять их к подлежащим иммунным структурам слизистой оболочки. Что касается абсорбции макромолекул в кишечнике, то этот процесс может осуществляться либо по трансцеллюлярному, либо по парацеллюлярному пути.

Трансцеллюлярный путь. Трансцеллюлярное поглощение наночастиц на основе углеводных биополимеров происходит путем транцитоза – процесса, посредством которого носители захватываются энтероцитами и М-клетками. На клеточных моделях *in vitro* показано, что транспорт наночастиц через М-клетки в 5 раз выше, чем через энтероциты [13]. При этом, наночастицы меньше 100 нм абсорбируются энтероцитами, тогда как частицы больше 500 нм, похоже, поглощаются М-клетками [11]. Усиление мукоадгезивной способности наночастиц также может быть эффективным механизмом повышения поглотительной способности эпителиальных клеток. Хитозан известен как мукоадгезивный полимер, адгезивные свойства которого обусловлены электростатическим взаимодействием между его положительно заряженными молекулами и отрицательно заряженными остатками сиаловой кислоты на поверхности слизистой оболочки. Это взаимодействие может обеспечить пролонгированный контакт между наночастицами хитозана и абсорбционной поверхностью кишечника, ускоряя тем самым их энтеральную абсорбцию.

Парацеллюлярный путь. Абсорбция посредством парацеллюлярного пути (поглощение через

интерстициальное пространство между эпителиальными клетками) в норме ограничена относительно узкими по ширине парацеллюлярными каналами и присутствием плотных контактов, которые образуют барьер, обеспечивающий возможность абсорбции из просвета воды и электролитов, но препятствующий переходу воспалительных или инфекционных агентов в систему циркуляции. Плотные контакты состоят из сложной комбинации трансмембранных интегральных белков, включая клаудины, окклюдин и молекулы контактной адгезии, а также из внутриклеточных белков бляшек и регуляторных белков, которые прикрепляют трансмембранные белки к актину цитоскелета. Трансмембранные белки играют основную роль в формировании соединений между соседними клетками, в то время как белки бляшек образуют структурные опоры для плотных контактов, а регуляторные белки контролируют сигналы, регулирующие проницаемость плотных контактов и клеточную дифференциацию [40].

После воздействия хитозана происходит обратимое открытие плотного контакта. Механизм и последовательность этого действия изучались на однослойной клеточной модели Сасо-2. Оказалось, что после внесения в среду хитозана происходит перегруппировка клаудина 4 из клеточной мембраны в цитозоль и его деградация в лизосомах, что, в конечном счете, приводит к снижению прочности плотного контакта и повышению парацеллюлярной проницаемости [43]. Восстановление плотного контакта осуществляется за счет синтеза новых молекул клаудина 4. Последующие эксперименты на мышах с использованием световой и электронной микроскопии показали, что частицы хитозана способны инфильтрировать слизистую оболочку кишки и длительно удерживаться на микроворсинках кишечных ворсинок. Несмотря на редкие наблюдения небольшого числа электронноплотных включений над плотными контактами, частицы хитозана редко обнаруживаются в парацеллюлярных пространствах и отсутствуют в базальной области кишечных ворсинок и млечном просвете. В экспериментах с лантаном (электронно-плотный трейсер) в контрольной группе животных его частицы обнаруживались главным образом на поверхности микроворсинок, но после перорального введения хитозана электронно-плотные гранулы заполняли парацеллюлярные пространства, демонстрируя тем самым открытие плотных контактов под действием хитозана [36]. Эти данные подтверждают мукоадгезивные свойства хитозана и представляют определенные доказательства его активности в раскрытии плотных контактов.

Теоретически, парацеллюлярный транспорт наночастиц неосуществим, так как интерстициальное пространство между эпителиальными клетками в естественном состоянии составляет от 0,3 до 1 нм – т.е. оно слишком узкое для проникновения большинства наночастиц. Даже в полностью открытом состоянии ширина плотного контакта менее 20 нм, что недостаточно для

транспорта интактных наночастиц полисахаридов через парацеллюлярное пространство. В случае применения наночастиц хитозана, нагруженных лекарственным веществом, дезинтеграция хитозановых гранул вследствие их рН чувствительности возле поверхности эпителиальной клетки будет способствовать высвобождению лекарственного вещества и его поступлению в системный кровоток, благодаря опосредованному хитозаном открытию плотных контактов.

Химические дериваты хитозана. Ряд работ посвящен химической модификации хитозана, включающей кватернизацию, тиолирование, карбоксилирование, алкилирование, ацилирование, полиэтиленгликолирование и сополимеризацию, с целью дальнейшего улучшения его полезных свойств, таких как водорастворимость, мукоадгезивность, ферментное ингибирование и способность к открытию плотных контактов. Синтезированные кватернизированные дериваты хитозана (триметилхитозан, диметилэтилхитозан, диэтилметилхитозан и триэтилхитозан) сохраняют положительный заряд в кишечной среде и значительно повышают его водорастворимость. Способность к раскрытию плотного контакта кватернизированными дериватами хитозана зависит от степени кватернизации; более высокая степень (или более высокая плотность заряда) обеспечивает более высокую транспортную способность. Протяженность замещенных N-алкиловых групп на кватернизированном хитозане также играет важную роль в их воздействии на парацеллюлярную проницаемость [33].

Тиолированные хитозаны синтезируются путем ковалентного соединения с сульфгидрильными агентами, такими как цистеин, тиогликолевая кислота и глутатион, с формированием дериватов, включая хитозан-тиогликолевую кислоту, хитозан-цистеин, хитозан-глутатион, хитозан-4-тиобутиламидин и хитозан-тиоэтиламидин. Мукоадгезивная прочность тиолированных дериватов по отношению к слизистой оболочке кишечника значительно возрастает, что делает их привлекательными в качестве средств доставки белковых макромолекул [25]. Это свойство обеспечивается формированием дисульфидных мостиков между тиоловыми группами и цистеин-обогащенными областями гликопротеинов в слизистом слое; эта связь более прочная, чем ионное взаимодействие между катионным хитозаном и анионными субстанциями слизистой оболочки. Мукоадгезивная прочность тиолированного хитозана коррелирует с его степенью тиолирования. Синтезированный триметил-хитозан-цистеин приобретает свойства и кватернизированного, и тиолированного хитозанов. Поэтому эффекты повышения мукоадгезии и парацеллюлярной проницаемости наночастиц триметил-хитозан-цистеина достоверно выше, чем таковые наночастиц триметил-хитозана.

Карбоксилирование хитозана осуществляется отрицательно заряженными карбоксильными группами для повышения водорастворимости. Карбоксиметиловые дериваты получают путем введения $-\text{CH}_2\text{COOH}$

групп в 6-О и 2-*N* атомы на хитозане. *N*-сукцинил-хитозан получают путем присоединения сукциниловых групп к глюкозаминовым блокам хитозана. Благодаря возможности удерживать и катионные ($-\text{NH}_3^+$), и анионные ($-\text{COO}^-$) группы, карбоксиметиловые и сукциниловые дериваты хитозана могут относиться к полиамфолитам. Карбоксилированные дериваты хитозана снижают трансэпителиальную электрическую резистентность и повышают парацеллюлярную проницаемость для гепарина в эпителиальном монослое. Амфифильные дериваты хитозана могут быть получены путем переноса гидрофобных веществ, таких как алифатические кислоты ($\text{C}_6\text{--C}_{16}$), через *N*-ацетилирование или желчные кислоты и жирные кислоты через реакцию амидирования на молекулы полисахарида. В водном окружении полимерные амфифилы, благодаря взаимодействию между их гидрофобными и гидрофильными сегментами, путем самосборки формируют наночастицы. Известно, что в муцине присутствуют области для мукоадгезивного взаимодействия: это заряженные кислые группы на сиаловой кислоте и сульфонируемые остатки и гидрофобные метильные группы на остатках фукозы. Поэтому носители, содержащие гидрофобные сегменты могут обладать большей аффинностью к муцину. Так, гидрофобная лауриловая группа на лаурилсукцинил-хитозане повышает его мукоадгезивность, а карбоксильная группа сукциниловой части может связывать ионы кальция, тем самым ингибируя протеолитические ферменты и разрушая структуры плотных контактов.

Как уже упоминалось, хитозан обладает свойством мукоадгезивности и способностью к раскрытию плотных контактов, но его эффективность как средства усиления абсорбции и доставки макромолекул ограничена вследствие отсутствия у хитозана способности к ингибированию ферментов. Хелатирующие агенты, такие как ЭДТА, связывая двухвалентные катионы (например, Ca^{2+} и Zn^{2+}) могут ингибировать металлопептидазы, секретируемые в просвет, и мембранные ферменты на границе щеточной каемки. Кроме того, хелаты разрушают зоны адгезии между эпителиальными клетками за счет сорбции внеклеточного кальция и тем самым препятствуют формированию плотных контактов и изменяют парацеллюлярную проницаемость.

Эффективность наноструктур на основе биополимеров для адресной доставки макромолекул

Инсулин. Известно, что эндогенный инсулин, транспортируемый в печень через порталную циркуляцию, подавляет печеночную продукцию глюкозы и понуждает клетки печени, мышц и жировой ткани поглощать глюкозу из крови. Оральная доставка экзогенного инсулина является предпочтительным путем благодаря его способности воспроизводить физиологический профиль инсулина, подвергающемуся первому печеночному шунтированию. Этот путь может улучшить гомеостаз глюкозы и избежать