

М.А. Санжаков, О.М. Ипагова, Т.И. Торховская, В.Н. Прозоровский, Е.Г. Тихонова, О.С. Дружиловская, Н.В. Медведева

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН,
Москва, Российская Федерация

Наночастицы как системы транспорта для противотуберкулезных лекарств

Повышение частоты заболеваемости туберкулезом в последние годы стимулировало разработки новых противотуберкулезных препаратов, а также способов повышения эффективности уже имеющихся средств с использованием различных систем транспорта. Это обусловлено побочными реакциями и низкой биодоступностью одного из наиболее эффективных противотуберкулезных препаратов 1-го ряда — рифампицина. В обзоре рассмотрены различные системы транспорта противотуберкулезных препаратов на основе полимеров, липосом, липидных наночастиц, дендримеров, циклодекстринов, наноземulsionей. Приведены данные о влиянии включения лекарств (чаще всего рифампицина) в наночастицы на их фармакокинетику и противотуберкулезную активность. Наибольшее число работ посвящено полимерным наночастицам, вводимым перорально: показано увеличение времени циркуляции и активности включенных противотуберкулезных препаратов. Более высокая эффективность наблюдалась при использовании твердых липидных наночастиц. Для ингаляционного или инъекционного введения исследовали в большей степени влияние липосомальных форм, также показавших положительные результаты. Отмечена перспективность встраивания противотуберкулезных препаратов в наночастицы на основе фосфолипидов, и приведены собственные данные авторов о повышении эффективности рифампицина при встраивании в такие наночастицы.

Ключевые слова: лечение туберкулеза, наночастицы, рифампицин, фосфолипиды.

37

Введение

Разработка новых лекарственных форм существующих препаратов с различными системами доставки, позволяющими повысить концентрацию поступающего лекарственного средства к пораженному органу и снизить выраженность побочных действий, является эффективным способом улучшения качества терапии. Ряд препаратов такого типа, например, противоопухолевые или противогрибковые средства, уже представлен на фармацевтическом рынке и активно применяется [1]. В последнее десятилетие разрабатывают системы доставки и для противотуберкулезных препаратов (ПТП), что связано с заметным повышением частоты заболеваемости туберкулезом [2].

Распространенность туберкулеза и общая оценка современного состояния противотуберкулезной терапии

После нескольких десятилетий временного «отступления» туберкулеза во второй половине XX в., обусловленного применением вакцин и первых ПТП, в последние десятилетия отмечается резкий эпидемический скачок частоты этого заболевания, являющегося основной причиной смертности среди всех инфекционных болезней [2]. Это связывают с общими тенденциями к ослаблению иммунной системы и повышением интенсивности миграции населения. Россия входит в список 22 стран с наибольшей распространенностью туберкулеза, занимая в нем 12-е место [3]. Рост заболеваемости за-

M.A. Sanzhakov, O.M. Ipatova, T.I. Torkhovskaya, V.N. Prozorovsky, E.G. Tikhonova, O.S. Druzhilovskaya, N.V. Medvedeva

Institute of Biomedical Chemistry, RAMS, Moscow, Russian Federation

Nanoparticles as Drug Delivery System for Antituberculous Drugs

The increase of tuberculosis incidence in last decade stimulated elaboration of both new antituberculous drugs and also searches of optimizing delivery systems for existing drugs. It is determined by their side effects and low bioavailability of effective first line drug rifampicin. Various nanosystems for transport of antituberculous drugs are considered on the basis of various polymers, liposomes, lipid nanoparticles, nanoemulsions, nanosuspensions, dendrimers, cyclodextrines. Influence of drug incorporation into nanoparticles, most often for rifampicin, on pharmacokinetics and efficiency in tuberculosis models is discussed. The most of works are devoted to polymer nanoparticles for oral administration where increased circulation time and efficiency were shown. The best results were observed after drug inclusion into solid lipid nanoparticles. The liposomes formulations were investigated mostly for inhalation and injection administrations. Positive results were also observed. Authors underline the viability of incorporation of antituberculous drugs into phospholipid nanoparticles that may increase intestinal absorption and bioavailability. It is confirmed by authors' own data that showed increase of rifampicin efficiency after their incorporation into such nanoparticles.

Key words: antituberculous treatment, nanoparticles, rifampicin, phospholipids.

ставляет пересматривать существующие методы терапии болезни [4]. Основные трудности лечения туберкулеза состоят в том, что на его возбудитель, бактерию *Mycobacterium tuberculosis*, не действуют традиционные антибиотики, что в первую очередь обусловлено ее прочной и непроницаемой для большинства лекарственных средств клеточной стенкой толщиной 8 нм [5]. С 40–50-х гг. для лечения туберкулеза использовали ряд средств, требовавших длительного (до 2 лет) применения (стрептомицин, парааминосалициловая кислота, левофлоксацин, амикацин и др.) [4]. Более активная борьба с туберкулезом началась лишь в 60–70-х гг. с появлением новых активных ПТП. Это изониазид, рифампицин, этамбутол и пиразинамид. Чаще всего применяют рифампицин и изониазид, ингибирующие, соответственно, РНК-полимеразу или синтез миколовых кислот, тогда как этамбутол и пиразинамид препятствуют образованию гликопротеиновых и липидных компонентов клеточной стенки. Эти 4 препарата являются основными компонентами терапии и в настоящее время. Используется рекомендованная экспертами Всемирной организации здравоохранения схема лечения: все 4 препарата ежедневно в течение 2 мес, и далее изониазид и рифампицин ежедневно или через день еще на протяжении 4 мес [4]. Одновременное введение как минимум 2 препаратов вызвано не только различием механизмов их действия, но и снижением риска развития лекарственной устойчивости. Поскольку потенциал развития мутаций, вызывающих устойчивость *M. tuberculosis*, ограничен, то одновременное введение нескольких препаратов оказывает против инфекции защитное действие [6].

Для удобства пациентов эти 4 препарата (называемые препаратами 1-го ряда) иногда объединяют в одну лекарственную форму — «комбинацию фиксированных доз» (Fixed Dose Combination, FDC) [7]. На фармацевтическом рынке существует более 10 вариантов таких комбинаций, и все они, как правило, включают рифампицин [4, 7]. В случаях развития устойчивости штаммов *M. tuberculosis* к этим ПТП (в среднем у 10–15% больных) применяют препараты 2-го ряда — клофазимин, ципрофлоксацин, этионамид, протионамид и др. Они менее активны, требуют длительного применения (не менее 2 лет), обладают выраженными побочными эффектами и часто являются более дорогими [4]. Все применяющиеся ПТП, включая лекарства 1-го ряда, обладают рядом недостатков. Это побочные эффекты (гепатотоксичность, влияние на желудочно-кишечный тракт), а также переменная биодоступность. Так, растворимый изониазид, быстро всасываясь, также быстро выводится печенью [8], а для рифампицина низкая биодоступность обусловлена чрезвычайно низкой водорастворимостью, а также частичным разложением в желудочно-кишечном тракте [4]. Разная биодоступность лекарственных средств в «комбинации фиксированных доз» затрудняет лечение [4, 9], а кроме того, может индуцировать постепенное формирование резистентности у данного штамма *M. tuberculosis* [6].

Разрабатывают и ряд новых лекарств, в т.ч. с использованием достижений геномики [10], которые в настоящее время находятся на разных стадиях доклинических и клинических исследований [4, 11]. Однако, как полагают, вероятность скорого выхода на рынок новых ПТП невелика. Лекарства, для которых клинические испытания были начаты в 2012 г., планируются к выходу на рынок только в 2016 г. [12]. Следовательно, в ближайшие годы будет продолжаться лечение туберкулеза по существующей схеме с преимущественным использованием имею-

щихся препаратов 1-го ряда. В свете возросшей частоты заболеваемости это обуславливает актуальность исследований, направленных на преодоление побочных реакций, развивающихся при применении уже существующих лекарств, а также на повышение биодоступности [2, 4, 9]. Современным подходом к повышению результативности имеющихся ПТП является снабжение их эффективными системами доставки [2, 9]. Наибольшее внимание при этом уделяется системам на основе наночастиц [2, 9, 12], уже продемонстрировавшим положительные результаты для ряда других классов лекарственных препаратов [1].

Лекарственные формы и системы доставки противотуберкулезных препаратов

Для создания систем доставки ПТП в последнее десятилетие были испробованы различные виды наночастиц из биосовместимых полимеров, липидов, иногда с добавлением фармацевтически разрешенных синтетических эмульгаторов типа твинов [2, 4, 9, 11]. В зависимости от свойств наночастиц и лекарства получали разные варианты локализации молекул лекарства в частице: прикрепление к поверхности или встраивание. При этом для наночастиц мицеллярной природы возможна локализация в поверхностном слое или в гидрофобном ядре [1, 2]. Включали в наночастицы или комбинацию ПТП 1-го ряда (изониазид, рифампицин и пиразинамид), или один из них (изониазид или рифампицин). Большинство работ ограничивалось исследованиями *in vitro*, заключавшимися в изучении встраивания лекарств в наночастицы, физико-химических свойств полученных наносистем, их стабильности и иногда действия на клетки. В ряде работ проводили фармакокинетические исследования *in vivo* в сравнении со свободными формами, а также изучение противотуберкулезного действия на моделях туберкулеза.

Включение противотуберкулезных препаратов в наночастицы и наносистемы. Действие на клетки *in vitro*

Липосомы

Наибольшее число работ по системам доставки ПТП посвящено их включению в липосомы. В одной из наиболее ранних работ включали рифампицин вместе с изониазидом в липосомы с составом «фосфатидилхолин — кардиолипин — холестерин» в соотношении 7:2:1 [13]. Впоследствии была показана возможность включения рифампицина в подобные липосомы, но без холестерина, с максимальной загрузкой лекарства 17%. При этом с помощью ядерного магнитного резонанса было продемонстрировано изменение упаковки фосфолипидов при включении рифампицина, указывающее на локализацию лекарства в липосомальном бислое [14]. Встраивание рифампицина в фосфолипидный бислой наблюдали Gursoy и соавт., проводившие совместное инкапсулирование в липосомы рифампицина и изониазида, причем водорастворимый изониазид находился во внутренней водной фазе липосом [15]. Changsan и соавт. включали рифампицин в липосомы из соевого фосфатидилхолина (ФХ) с холестерином, показав максимальное включение лекарства при молярном соотношении липидов 10:1 [16]. При использовании гидрогенизированного соевого лецитина максимальную стабильность липосом с включенным рифампицином наблюдали при соотношении

ФХ и холестерина 7:1 [17]. Возможность высокой загрузки рифампицина и этамбутола продемонстрирована для липосом из дипальмитоилфосфатидилхолина с холестерином [18]. Использование дипальмитоилфосфатидилхолина как липида легочного сурфактанта считают перспективным подходом в разработке систем доставки ПТП в легкие, способствующим лучшему проникновению в альвеолы за счет сродства к собственным альвеолярным фосфолипидам [18]. В последующей работе тех же авторов на монослой из этого фосфолипида установлена возможность встраивания рифампицина в фосфолипидный монослой, что, по их мнению, происходит и в липосомах [19]. Получена стабильная порошковая форма рифампицина в липосомах из соевого ФХ с холестерином (1:1) в высоких концентрациях (10 мМ ФХ), с 50% инкапсулированием лекарственного средства [20]. С использованием дифференциальной сканирующей калориметрии и ядерного магнитного резонанса авторы доказали, что рифампицин в таких липосомах локализуется между жирнокислотными цепями фосфолипидного бислоя, ассоциируясь с молекулой холестерина. Показано также, что липосомальный рифампицин более активно, чем свободный, подавлял рост клеток *Mycobacterium bovis*, минимальная ингибирующая концентрация для него была в 4 раза ниже [20]. Сообщается и о получении липосом с новым производным рифампицина — рифапентином — с включением лаурилдиганоламида [21].

В ряде работ изучалась *in vitro* антимикробная активность ПТП, включенных в липосомы, с выяснением влияния их заряда. Данные в этом вопросе противоречивы. Так, рифампицин проявлял высокую антимикробную активность на штамме *Staphylococcus epidermidis* в катионных липосомах, содержащих стеариоламин и дистеариоламин [22]. В другой работе показана активность рифампицина против *M. tuberculosis* в липосомах («катионных бислоях») из синтетического липида диоктадецил-диметиламмоний бромид [23]. С другой стороны, отмечают активирующее действие липосом с отрицательным зарядом. В частности, *ex vivo* показано, что рифампицин, включенный в липосомы с добавлением фосфатидилсерина, может проникать внутрь нейтрофилов больных гранулематозным заболеванием, вызванным *Staphylococcus aureus*, убивая фагоцитирующие бактерии [24]. Показано также, что отрицательный заряд фосфатидилсерина на поверхности липосом способствует лучшей доставке лекарства в макрофаги, в частности в макрофаги легких — преимущественное место локализации *M. tuberculosis* [25]. Это было подтверждено Yuas и соавт. на липосомах с холестерином с включением дицетилфосфата как источника отрицательного заряда [26].

Твердые липидные наночастицы

Встраивание смеси основных ПТП проводили в твердые липидные наночастицы (solid lipid nanoparticles, SLN) с использованием техники эмульсионной диффузии растворителя [27]. Для этого смесь лекарств (по 10 мг каждого) с 30 мг стеариновой кислоты растворяли в 25 мл смеси ацетон / этанол (1:1), добавляли равный объем 1% водного поливинилового спирта и перемешивали при температуре 4–8 °С. Образующиеся липидные наночастицы с включенными лекарствами отделяли центрифугированием, промывали водой и высушивали в вакууме. Другие авторы встраивали в твердые липидные наночастицы только изониазид с целью замедления его быстрого клиренса [8] или рифабутин, конъюгируя поверхность наночастиц с маннозой, целью повышения их взаимодействия с альвеолярными макрофагами [28].

Полимерные наночастицы

Для включения ПТП использовали различные виды наночастиц из биodeградируемых полимеров, например полилактилгликолидов (PLG). Процент инкапсулирования рифампицина, изониазида и пипразинамида в такие наночастицы составлял 56,9; 66,3 и 68%, соответственно [29]. Для повышения эффективности встраивания изониазида получали его гидрофобное производное, показав ассоциацию наночастиц с клетками *M. tuberculosis* [30]. Получены также полимерные наночастицы с рифампицином, изониазидом и стрептомицином на основе полибутилдианакрилата и его производных, способные проникать *in vitro* в моноциты крови человека [31]. Кроме того, рифампицин включали в мицеллы из триблоксополимера поли-ε-капролактона P(CL-CL), полигликолида P(GL-GL) и полиэтиленгликоля (PEG) [32]. Сообщается о возможности образования устойчивых полимерных мицелл с размерами 78–99 нм при конъюгации рифампицина, изониазида или оксиметил-производного пипразинамида с карбоксильными группами сополимера PEG и полиаспарагиновой кислоты [33], иногда с покрытием наночастиц маннозилированным блок-сополимером PEG [34]. Полученные композиции продемонстрировали высокую активность *in vitro* [33].

Другие виды наночастиц

ПТП включали и в другие виды наночастиц, например в дендримеры. Полученные наночастицы вызывали гемолиз, но его удалось снизить присоединением маннозы к поверхности частиц [35]. Показан захват рифампицина в таких частицах фагоцитами, а также его антибактериальная активность при включении в циклодекстрины [36]. Сообщается о включении другого ПТП, пипразинамида, в углеродные нанотрубки (carbon nanotube) [37]. Опубликованы работы по встраиванию рифампицина или изониазида в ниосомы — везикулы с неионным сурфактантом, приготавливаемые с использованием смеси тритона X100, PEG и эфиров сорбитана (Span-80, -85, -20) с добавлением холестерина [38]. Придание ниосомам отрицательного заряда за счет добавления дицетилфосфата повышало поступление встроеного рифампицина в макрофаги [38].

Наносистемы с использованием синтетических эмульгаторов для солюбилизации противотуберкулезных препаратов

В ряде работ для солюбилизации ПТП получали наноэмульсии с использованием твинов, эфиров полиольных жирных кислот или ряда других эмульгаторов, входящих в список GRAS-ингредиентов (Generally Recognized As Safe), разрешенных FDA (Food and Drug Administration, США) [39]. Ahmed и соавт. [39] солюбилизировали рифампицин в системе, содержащей Твин-80, -85 и Sefsol-218 (эфиры полиольных жирных кислот) в физиологическом растворе. Оценивая размер частиц, вязкость, гомогенность и pH системы, авторы подобрали оптимальный состав, обеспечивающий стабильность наноэмульсии в течение 3 мес с перспективой ее использования для внутривенного введения [39]. В других работах проводилось встраивание рифампицина, изониазида и пипразинамида в частицы микроэмульсии, содержащей Твин (-20, -40, -60 или -80), олеиновую кислоту и этанол, в буфере с pH = 7,4. Полученные частицы (капли) со средним размером 210 нм характеризовали методами ядерного магнитного резонанса и электронной микроскопии, а также оценивали кинетику выхода лекарств из липосом. При

этом для рифампицина было показано наиболее прочное удерживание в наночастицах [40].

Таким образом, во многих исследованиях последнего десятилетия продемонстрирована возможность встраивания ПТП в транспортные системы на основе наночастиц, иногда со специфическими модификациями их поверхности путем маннозилирования или придания заряда. Для наночастиц на основе липидов (липосом и твердых липидных наночастиц) были подобраны оптимальные соотношения липидных компонентов, для полимерных — возможности использования ряда биосовместимых и биodeградируемых полимеров. Изучали влияние состава наночастиц на включение ПТП, а также свойства и размеры наночастиц с включенным лекарством, с перспективой их дальнейшего терапевтического использования.

В ряде работ проводились исследования фармакокинетики и действия ПТП в системах доставки на животных (мышьях или морских свинок) с моделями туберкулеза.

Эффективность лекарств, включенных в системы доставки, на моделях туберкулеза *in vivo*

40 Пероральное введение противотуберкулезных препаратов с системами доставки

Большинство исследований по перорально вводимым системам доставки ПТП было направлено на преодоление низкой биодоступности рифампицина. Основная ее причина — очень низкая водорастворимость рифампицина (1–2 мг/мл что на порядок ниже, чем у пипразинамида, и на 2 порядка ниже, чем у изониазида и этамбутола) [4]. Недостаточная доза рифампицина не только оказывается бесполезной, но даже может нанести определенный вред, способствуя развитию резистентности [6]. Чтобы избежать этого, предлагали различные лекарственные формы на основе полимеров для комбинированного введения рифампицина и изониазида в виде капсул или таблеток [41]. С целью повышения абсорбции рифампицина в кишечнике перспективными в последние годы считают полимерные наночастицы (альгинатные или из полилактидгликолидов, PLG), содержащие рифампицин или его сочетания с другими препаратами 1-го ряда [29, 42–44]. Показано, что при введении композиции ПТП в форме наночастиц рифампицин оставался в плазме крови 4 сут, изониазид и пипразинамид — 9–11 сут в отличие от 12–14 ч для всех 3 лекарств при их введении в той же комбинации в свободном виде [43]. Микрочастицы идентичного состава оказывали меньший эффект [44], что подтверждает влияние размера наночастиц на фармакокинетику лекарственного средства. В органах все 3 препарата при их введении в наночастицах сохранялись до 9 сут по сравнению с 1–2 сут для свободных лекарств. В экспериментах на мышьях, инфицированных *M. tuberculosis H(37)Rv*, уничтожение бактерий в органах наступало после 1 мес ежедневного введения комбинаций свободных ПТП, а при введении той же смеси лекарств в виде наночастиц для этого требовалось всего 3 дозы при введении 1 раз в 10 сут [43]. На морских свинок эксперимент по той же схеме, но с большей длительностью (1,5 мес) дал такой же результат: 46 ежедневных доз свободной смеси ПТП были эквивалентны по действию 5 дозам лекарств в наночастицах, вводимым 1 раз в 10 сут [45]. Было также показано, что присутствие лектина на поверхности полимерных наночастиц улучшает их адгезию в кишечнике и тем самым повышает эффективность абсорбции лекарства [46].

Разработанная наносистема из полилактидгликолида оказалась пригодной и для доставки ПТП в мозг экспериментальным животным, что авторы расценивают как возможность ее использования при туберкулезе мозговой локализации [43]. Впоследствии эта наносистема была применена той же группой авторов для ПТП 2-го ряда этионамида с улучшением фармакокинетики препарата [47]. Сообщений по продвижению этой системы с ПТП на фармацевтический рынок в литературных источниках обнаружить не удалось.

Улучшение фармакокинетики и эффективности при пероральном и внутривенном введении наблюдали и с полимерными наночастицами из полибутилцианоакрилата с включенными ПТП 2-го ряда эконазолом и моксифлоксацином [48]. Внимание к этим лекарственным средствам обусловлено упомянутыми выше случаями резистентности штаммов к препаратам 1-го ряда. Однако длительный курс лечения препаратами 2-го ряда (до 2 лет) вызывает побочные эффекты, и это вынуждает искать способы их снижения, также используя наночастицы в качестве систем доставки [47, 48].

В работе Pandey и соавт. описаны результаты перорального введения мышьям смеси рифампицина, изониазида и пипразинамида в твердых липидных наночастицах [27]. После однократного введения терапевтическая концентрация всех 3 лекарств сохранялась в плазме в течение 8 сут, а в органах (легкие, печень, селезенка) — 10 суток. Лекарства же в свободной форме полностью выходили через 1–2 сут. Необходимое для уничтожения бактерий в легких и селезенке число доз было значительно меньше, чем для свободной формы: 5 доз через 10 сут вместо 46 ежедневных [27]. Улучшение биодоступности при включении в твердые липидные наночастицы было недавно установлено и для изониазида, наряду с его большим проникновением в мозг [8].

Ранее способность наночастиц (диаметром 280 нм) проходить через слой кишечных клеток Caco-2 в культуре была продемонстрирована для наносуперпензии другого лекарства, причем была установлена ее корреляция с биодоступностью наночастиц *in vivo* [49]. В связи с этим данные о повышении биодоступности ПТП, включенных в наночастицы [27, 43–45], могут свидетельствовать о способности наночастиц улучшать кишечное всасывание включенных лекарственных средств, возможно, путем транспорта через эндотелиальные кишечные клетки. При этом липидные наночастицы (SLN) показали лучшие результаты, чем полимерные [11]. Возможно, это связано с их большим сродством к высокогидрофобной клеточной стенке *M. tuberculosis*, содержащей сульфогликолипиды и разветвленные жирные окисленные кислоты (миколовые) с необычно большой длиной цепи (C₅₀–C₇₀) [5]. Такая стенка, непроницаемая для большинства препаратов [5], может иметь большую проницаемость для липидных наночастиц, повышая вероятность проникновения ПТП в клетку. Перспективность именно липидных наночастиц по сравнению с полимерными для включения ПТП отмечена недавно Banual и соавт., которые, наряду с наноразмерами, подчеркнули такие их преимущества, как возможность высокой загрузки лекарством и использование физиологически естественных липидных компонентов, снижающих риск системной токсичности [11].

К недостаткам твердых липидных наночастиц можно отнести использование токсичных растворителей (ацетона) при их приготовлении [27]. Более перспективными для транспорта ПТП и лишенными этих недостатков могут быть другие липидные наночастицы, в частности на основе соевого ФХ, разработанные в ФГБУ «ИБМХ»

РАМН и имеющие размер не более 50 нм. Доказана возможность встраивания в них ряда лекарств, что улучшало их фармакокинетику и эффективность [50]. Разработан метод встраивания в них и ряда ПТП, в частности рифампицина IF [51].

Ингаляционное введение

Большинство работ по оптимизации лекарственных форм ПТП (чаще всего рифампицина) с использованием наночастиц как систем транспорта связано с разработкой ингаляционных форм препаратов. Их вводили экспериментальным животным в виде аэрозолей, иногда с использованием небулайзера или бронхоскопа [18, 21, 52–54]. Именно ингаляционные формы обеспечивают непосредственное поступление лекарства в пораженный орган (легкие) и конкретно в альвеолярные макрофаги, внутри которых чаще всего локализуется возбудитель *M. tuberculosis*. Из всех перечисленных выше видов наночастиц для разработки ингаляционных форм чаще всего использовали липосомы [18, 21, 25, 26, 52, 53]. При этом полагают, что ингаляционное введение, в отличие от перорального, предохраняет липосомы от разрушения липазами [54].

Так, при аэрозольном введении крысам рифампицина, включенного в липосомы из соевого ФХ и холестерина, зарегистрировано более глубокое проникновение рифампицина в дыхательные пути и ингибирование роста *Mycobacterium avium* в макрофагах по сравнению с действием свободного лекарства [17]. Той же группой авторов установлено повышение эффективности при покрытии липосом хитозаном [52], что объясняют улучшением их мукоадгезивных свойств, снижением токсичности лекарственного средства [52]. Vyas и соавт. [26] также показали повышение эффективности доставки рифампицина в макрофаги после его аэрозольного введения экспериментальным животным в липосомах с холестерином по сравнению с введением свободного лекарства. Этому способствовало наличие отрицательного заряда (за счет включения дицетилфосфата) и введение специфического лиганда к макрофагам стеароил-амилопектина [26]. Повышение захвата альвеолярными макрофагами *in vitro* и *in vivo* также наблюдали при покрытии липосом 4-аминофенил- α -D-маннопиранозидом [53].

Имеются сообщения об ингаляционном введении и полимерных наночастиц с ПТП. Так, после 10 ежедневных введений с помощью небулайзера морским свинкам с моделью туберкулеза смеси рифампицина, изониазида и пипразинамида в наночастицах из PLG зафиксировано отсутствие бактерий в легких [54]. Ингаляция ПТП в наночастицах, покрытых лектином, существенно продлевала циркуляцию препаратов в крови, обеспечивая накопление в органах [46]. Для полимерных частиц несколько большего размера (213 нм) при ингаляционном введении крысам наблюдали повышение захвата рифампицина альвеолярными макрофагами и более длительное удерживание в легких [55]. Показана эффективность при аэрозольном введении комбинации ПТП в альгинатных наночастицах [56]. При введении морским свинкам с помощью небулайзера твердых липидных наночастиц с рифампицином, изониазидом и пипразинамидом терапевтические концентрации лекарств в крови и органах поддерживались 5–7 сут в отличие от 1–2 сут для свободных форм [57].

Инъекционное введение

На мышях с моделью туберкулеза были исследованы возможности инъекционного введения разработанных

наноформ ПТП. В одной из первых работ Ogonzco и соавт. [58] вводили комбинацию рифампицина с изониазидом в липосомах из ФХ с кардиолипином и холестерином 2 раза/нед. Через 30 сут наблюдали более выраженное уменьшение поражения легких и количества числа бактерий (колониеобразующих единиц, КОЕ), чем в группе животных, получавших лекарства в свободной форме [58]. В другой работе после ежедневного введения липосом с рифампицином повышался уровень включения лекарства в перитонеальные макрофаги, и фиксировалось снижение бактериального роста [59].

Позже Deol и Khuller [60] разработали для инъекционного введения т.н. легочно-специфичные липосомы путем включения в них стеароил-амилопектина. Их липидными компонентами были ФХ, холестерин, дицетилфосфат и моносиалоганглиозид (дистеароил). При инъекциях рифампицина и изониазида в таких липосомах показано повышение биодоступности лекарств, накопление их в легких и снижение токсичности по сравнению со свободными формами [60]. После инъекций мышам стабилизированных липосом с инкапсулированными рифампицином и изониазидом (по 12 и 10 мг/кг) наблюдали присутствие лекарств в плазме крови и органах до 5–7 сут, по сравнению с 1–2 сут после свободных форм. Ежедневные инъекции липосом рифампицином приводили к более выраженному снижению числа бактерий в легких [61].

Хорошие результаты показали инъекции мышам с моделью туберкулеза пипразинамида в липосомах из дипальмитоил-ФХ с холестерином с добавлением дицетилфосфата (7:2:1) 2 раза/нед [62], для встроенного в липосомы рифабутина [63], а также для препарата 2-го ряда клофазамина [64]. Ранее наблюдали снижение числа КОЕ в легких зараженных туберкулезом мышей при инъекциях липосом с гентамицином [65] или стрептомицином [66].

Имеются данные и о внутривенном введении ПТП в полимерных наночастицах из полибутилцианоакрилата [48]. Такую форму с моксифлоксацином и эконазолом использовали и для инъекционного, и для перорального введения мышам, что улучшало фармакокинетику и эффективность лекарственных средств [48]. Кроме того, проводили инъекционное введение ПТП в форме наносупензий. Доказано, что все 4 препарата 1-го ряда в этом случае дольше оставались в кровяном русле (до 10 сут), чем свободные лекарства (1–2 сут). В целом полагают, что «нанонизация» удобна для любого пути введения [67].

Перспективы практического использования систем доставки лекарственных средств в терапии туберкулеза

Несмотря на обилие публикаций в области разработки ПТП, снабженных системами доставки, эти работы на сегодняшний день практически так и остаются на уровне исследований и разработок (Research and Development, R&D) [2, 3, 9, 12], и сообщения об их фармацевтическом продвижении отсутствуют. В отличие от других отраслей медицины, для которых подчеркивается значимость систем доставки, не меньшая, чем новых лекарств, в лечении туберкулеза до последних лет преобладала иная ситуация. Несколько новых запатентованных препаратов проходят разные стадии клинических испытаний: рифаметан (производное рифампицина), соединения из группы диарилхинолонов или содержащие имидазол, ингибирующие синтез компонентов клеточной стенки или АТФ-синтазу *M. tuberculosis* [9, 10]. Однако все это новые

Таблица. Влияние включения рифампицина в фосфолипидные наночастицы на его противотуберкулезную активность [68]

Препарат	Индекс поражения легких, баллы	Число колониеобразующих единиц, КОЕ
Рифампицин	1,7±0,08	37,4±15,6
Рифампицин в наночастицах	1,2±0,16 ($p < 0,02$)	1,7±1,1 ($p < 0,05$)

Примечание. Мышам с экспериментальным генерализованным туберкулезом, индуцированным штаммом *M. tuberculosis Erdman*, вводили перорально препараты рифампицина по 10 мг/кг в течение 6 нед. Число КОЕ определяли после посева аликвот гомогената легких через 3 нед инкубации. Индекс поражения легких оценивали по 4-балльной системе (по степени выраженности некротических очагов). p — достоверность различий между эффектом при введении свободного рифампицина и рифампицина, встроенного в наночастицы.

лекарства, и среди них нет ни одного препарата на основе систем доставки. Было краткое упоминания в обзоре 2010 г. о разрабатываемом в Южной Африке комплексном препарате Rifanano, предполагавшемся к выходу на рынок в 2016 г. [9]. Но публикаций о нем нет, а в последнем обзоре Vanuyal с соавт. 2013 г. [11], специально посвященном перспективам использования нанотехнологий для лечения туберкулеза, о нем даже не упоминается.

В ФГБУ «НИИ БМХ» РАМН получена новая форма ПТП в фосфолипидных наночастицах размером до 30 нм [51, 68]. Доказано, что встраивание рифампицина в такие наночастицы повышает его биодоступность, а также существенно увеличивает противотуберкулезную активность на мышцах с экспериментальным генерализованным туберкулезом, индуцированным штаммом *M. tuberculosis Erdman*. Число КОЕ в легких животных после шестинедельного перорального применения нанофосфолипидной формы рифампицина F в дозе 10 мг/кг оказалось в 22 раза меньше, чем после лечения свободным лекарством (1,7±1,1 и 37,4±15,6 ед., соответственно), наряду с более низким индексом поражения легких (табл.) [68].

Заключение

На фармацевтическом рынке пока не существует ни одного ПТП с системой доставки. Лечение тубер-

кулеза проводится только свободными препаратами в различных лекарственных формах (таблетки, капсулы и другие), в основном традиционными лекарствами 1-го ряда. Новые запатентованные средства, какими бы они ни были эффективными, в лучшем случае только прошли II фазу клинических испытаний и еще далеки от выхода на рынок. Именно поэтому еще длительное время будет сохранять свою актуальность принятая схема, заключающаяся (для обычных, нерезистентных штаммов *M. tuberculosis*) в комбинированном использовании традиционных препаратов 1-го ряда, несмотря на ее известные недостатки (в первую очередь низкую и переменную биодоступность основного лекарственного средства рифампицина). Высокая распространенность туберкулеза и, соответственно, терапевтическая значимость этих лекарств наряду с практическим отсутствием эффективных транспортных систем, помогающих преодолеть их недостатки, обуславливают актуальность исследований в направлении разработки таких систем с участием наночастиц. При этом, как и для лекарственных средств других терапевтических групп, перспективным является использование фосфолипидных транспортных наносистем, способных включать ряд лекарственных веществ, повышая их биодоступность и терапевтическую эффективность. Подобные исследования в настоящее время проводятся в ФГБУ «НИИ БМХ» РАМН.

REFERENCES

- Doane T.L., Burda C. The unique role of nanoparticles in nanomedicine: imaging, drug delivery and therapy. *Chem. Soc. Rev.* 2012; 41 (7): 2885–2911.
- Dube D., Agrawal G.P., Vyas S.P. Tuberculosis: from molecular pathogenesis to effective drug carrier design. *Drug Discov. Today.* 2012; 17 (13–14): 760–773.
- http://altermed.com.ua/comment_6359.html?id_cot=201&id_kniga=201
- du Toit L.C., Pillay V., Danckwerts M.P. Tuberculosis chemotherapy: current drug delivery approaches. *Respir. Res.* 2006; 7: 118.
- Kaur D., Guerin M.E., Skovierova H., Brennan P.J., Jackson M. Biogenesis of the cell wall and other glycoconjugates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Adv. Appl. Microbiol.* 2009; 69: 23–78.
- Colijn C., Cohen T., Ganesh A., Murray M. Spontaneous emergence of multiple drug resistance in tuberculosis before and during therapy. *PLoS One.* 2011; 6(3): 18327.
- Agrawal S., Singh I., Kaur K.J., Bhade S.R., Kaul C.L., Panchnagula R. Bioequivalence assessment of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in a fixed dose combination of rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol vs. separate formulations. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 2002; 40 (10): 474–481.
- Bhandari R., Kaur I.P. Pharmacokinetics, tissue distribution and relative bioavailability of isoniazid-solid lipid nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 2013; 441: 202–212.
- Sosnik A., Carcaboso A.M., Glisoni R.J., Moreton M.A., Chiappetta D.A. New old challenges in tuberculosis: Potentially effective nanotechnologies in drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010; 62 (4–5): 547–559.
- Tomioka H., Namba K. Development of antituberculous drugs: current status and future prospects. *Kekkaku.* 2006; 81 (12): 753–774.
- Banyal S., Malik P., Tuli H.S., Mukherjee T.K. Advances in nanotechnology for diagnosis and treatment of tuberculosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2013; [Epub ahead of print].
- Shegokar R., Al Shaal L., Mitri K. Present status of nanoparticle research for treatment of tuberculosis. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 2011; 14 (1): 100–116.
- Wasserman M., Beltran R.M., Quintana F.O., Mendoza P.M., Orozco L.C., Rodriguez G. A simple technique for entrapping rifampicin and isoniazid into liposomes. *Tubercle.* 1986; 67 (2): 83–90.
- Minina A.S., Sorokoumova G.M., Selisheva A.A., Malikova N.M., Kalashnikova T.Yu., Shvets V.I. *Biofizika — Biophysics.* 2004; 49(4): 674–679.
- Gursoy A., Kut E., Ozkirimli S. Co-encapsulation of isoniazid and rifampicin in liposomes and characterization of liposomes by derivative spectroscopy. *Int. J. Pharm.* 2004; 271 (1–2): 115–123.
- Changsan N., Chan H.K., Separovic F., Srichana T. Physicochemical characterization and stability of rifampicin liposome powder formulations for inhalation. *J. Pharm. Sci.* 2009; 98 (2): 628–369.
- Zaru M., Sinico C., De Logu A., Caddeo C., Lai F., Manca M.L., Fadda A.M. Rifampicin-loaded liposomes for the passive targeting

- to alveolar macrophages: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *J. Liposome Res.* 2009; 19 (1): 68–76.
- 18 Chimote G., Banerjee R. Evaluation of antitubercular drug-loaded surfactants as inhalable drug-delivery systems for pulmonary tuberculosis. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2009; 89 (2): 281–292.
 - 19 Chimote G, Banerjee R. Evaluation of antitubercular drug insertion into preformed dipalmitoyl-phosphatidylcholine monolayers. *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* 2008; 62 (2): 258–264.
 - 20 Changsan N., Nilkaeo A., Punggrassami P., Srichana T. Monitoring safety of liposomes containing rifampicin on respiratory cell lines and *in vitro* efficacy against *Mycobacterium bovis* in alveolar macrophages. *J. Drug Target.* 2009; 17 (10): 751–762.
 - 21 Shu J.Y., Quan X.Y., Shu Y., Guang Y.P., Liu Y.C. Preparation, characterization, and pulmonary delivery of rifapentine liposomes modified by lauric diethanolamide. *Yao Xue Xue Bao.* 2006; 41 (8): 761–764.
 - 22 Pasquardini L., Lunelli L., Vanzetti L., Anderle M., Pederzoli C. Immobilization of cationic rifampicin-loaded liposomes on polystyrene for drug-delivery. *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* 2008; 62 (2): 265–272.
 - 23 Barbassa L., Mamizuka E.M., Carmona-Ribeiro A.M. Supramolecular assemblies of rifampicin and cationic bilayers: preparation and micobactericidal activity. *BMC Biotechnol.* 2011; 11: 40.
 - 24 Roesler J., Hockertz S., Vögt B., Lohmann-Matthes M.L. Staphylococci surviving intracellularly in phagocytes from patients suffering from chronic granulomatous disease are killed *in vitro* by antibiotics encapsulated in liposomes. *J. Clin. Invest.* 1991; 88 (4): 1224–1229.
 - 25 Pinheiro M., Lucio M., Lima J.L., Reis S. Liposomes as drug delivery systems for the treatment of TB. *Nanomedicine (London).* 2011; 6 (8): 1413–1428.
 - 26 Vyas S.P., Kannan M.E., Jain S., Mishra V., Singh P. Design of liposomal aerosols for improved delivery of rifampicin to alveolar macrophages. *Int. J. Pharm.* 2004; 269 (1): 37–49.
 - 27 Pandey R., Sharma S., Khuller G.K. Oral solid lipid nanoparticle-based antitubercular chemotherapy. *Tuberculosis (Edinburgh).* 2005; 85 (5–6): 415–420.
 - 28 Nimje N., Agarwal A., Saraogi G.K., Lariya N., Rai G., Agrawal H., Agrawal G.P. Mannosylated nanoparticulate carriers of rifabutin for alveolar targeting. *J. Drug Target.* 2009; 17: 777–787.
 - 29 Pandey R., Khuller G.K. Nanotechnology based drug delivery system(s) for the management of tuberculosis. *Indian J Exp. Biol.* 2006; 44: 357–366.
 - 30 de Faria T.J., Roman M., de Souza N.M., De Vecchi R., de Assis J.V., dos Santos A.L., Bechtold I.H., Winter N., Soares M.J., Silva L.P., De Almeida M.V., Bafica A. An isoniazid analogue promotes *Mycobacterium tuberculosis*-nanoparticle interactions and enhances bacterial killing by macrophages. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56 (5): 2259–2567.
 - 31 Anisimova Y.V., Gelperina S.E., Peloquin C.A., Heifets I.B. Nanoparticles as antituberculosis drugs carriers: effect on activity against *M. tuberculosis* in human monocyte-derived macrophages. *J. Nanoparticle Res.* 2000; 2: 165–171.
 - 32 Jiang Z., Hao J., You Y., Gu Q., Cao W., Deng X. Biodegradable thermogelling hydrogel of P(CL–GL)–PEG–P(CL–GL) triblock copolymer: degradation and drug release. *J. Pharmaceut. Sci.* 2009; 98: 2603–2610.
 - 33 Silva M., Ferreira E.I., Leite C.Q.F., Sato D.N. Preparation of polymeric micelles for use as carriers of tuberculostatic drugs. *Trop. J. Pharm. Res.* 2007; 6 (4): 815–824.
 - 34 D'Addio S.M., Baldassano S., Shi L., Adamson D.H., Bruzek M., Anthony J.E., Laskin D.L., Sinko P.J., Prud'homme R.K. Optimization of cell receptor-specific targeting through multivalent surface decoration of polymeric nanocarriers. *J. Control Release.* 2013; [Epub ahead of print].
 - 35 Kumar P.V., Asthana A., Dutta T., Jain N.K. Intracellular macrophage uptake of rifampicin loaded mannosylated dendrimers. *J. Drug Target.* 2006; 14: 546–556.
 - 36 Patil J.S., Suresh S. Physicochemical characterization, *in vitro* release and permeation studies of rifampicin-cyclodextrin inclusion complexes. *Indian J. Pharm. Sci.* 2009; 71 (6): 638–643.
 - 37 Saikia N., Rajkhowa S., Deka R.C. Density functional and molecular docking studies towards investigating the role of single-wall carbon nanotubes for loading and delivery of pyrazinamide antitubercular drug. *J. Comput. Aided Mol.* 2013; [Epub ahead of print].
 - 38 Mehta S.K., Jindal N., Kaur G. Quantitative investigation, stability and *in vitro* release studies of anti-tuberculosis drugs in triton niosomes. *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* 2011; 87 (1): 173–179.
 - 39 Ahmed M., Ramadan W., Rambhu D., Shakeel F. Potential of nanoemulsions for intravenous delivery of rifampicin. *Pharmazie.* 2008; 63: 806–811.
 - 40 Mehta S.K., Kaur G., Bhasin K.K. Tween-embedded microemulsions-physicochemical and spectroscopic analysis for antitubercular drugs. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2010; 11: 143–153.
 - 41 Sarfaraz M.D., Hiremath D., Chowdary K.P.R. Formulation and characterization of rifampicin microcapsules. *Indian J. Pharm. Sci.* 2010; 72 (1): 101–105.
 - 42 Hiremath P.S., Saha R.N. Oral matrix tablet formulations for concomitant controlled release of anti-tubercular drugs: design and *in vitro* evaluations. *Int. J. Pharm.* 2008; 362 (1–2): 118–125.
 - 43 Pandey R., Sharma S., Khuller G.K. Chemotherapeutic efficacy of nanoparticle encapsulated antitubercular drugs. *Drug Deliv.* 2006; 13 (4): 287–294.
 - 44 Dutt M., Khuller G.K. Chemotherapy of *Mycobacterium tuberculosis* infections in mice with a combination of isoniazid and rifampicin entrapped in Poly (DL-lactide-co-glycolide) microparticles. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 47 (6): 829–835.
 - 45 Johnson C.M., Pandey R., Sharma S., Khuller G.K., Basaraba R.J., Orme I.M., Lenaerts A.J. Oral therapy using nanoparticle-encapsulated antituberculosis drugs in guinea pigs infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005; 49 (10): 4335–4338.
 - 46 Sharma A., Sharma S., Khuller G.K. Lectin-functionalized poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles as oral/aerosolized antitubercular drug carriers for treatment of tuberculosis. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004; 54 (4): 761–766.
 - 47 Kumar G., Sharma S., Shafiq N., Pandhi P., Khuller G.K., Malhotra S. Pharmacokinetics and tissue distribution studies of orally administered nanoparticles encapsulated ethionamide used as potential drug delivery system in management of multi-drug resistant tuberculosis. *Drug Deliv.* 2011; 18 (1): 65–73.
 - 48 Kisich K.O., Gelperina S.E., Higgins M.P., Wilson S., Shipulo E., Oganeyan E., Heifets L. Encapsulation of moxifloxacin within poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles enhances efficacy against intracellular *Mycobacterium tuberculosis*. *Int. J. Pharm.* 2007; 345 (1–2): 154–162.
 - 49 Jia L., Wong H., Cerna C., Weitman S.D. Effect of nanonization on absorption of 301029: *ex vivo* and *in vivo* pharmacokinetic correlations. *Pharm. Res.* 2002; 19: 1091–1096.
 - 50 Ipatova O.M., Prozorovskiy V.N., Medvedeva N.V., Shironin A.V., Strekalova O.S., Ivanova N.D., Torkhovskaya T.I., Archakov A.I. Phospholipid nanoparticles as carriers for drug delivery. Materials of European Congress for Drug Discovery (MipTec). *Basel.* 2010. Abstr. 80.
 - 51 Ipatova O.M., Medvedeva N.V., Prozorovskii V.N., Sanzhakov M.A., Tikhonova E.G., Druzhilovskaya O.S., Minaev S.A., Kyurkchan P.A. *Protivotuberkuleznaya kompozitsiya i sposob ee polucheniya. Patent na izobretenie № 2472512, Zayavka № 2011149543/15* [Antituberculous Compounds and Method of its Preparation. Patent for invention № 2472512, Application № 2011149543/15]. Moscow, 2011.

52. Zaru M., Manca M.L., Fadda A.M., Antimisiaris S.G. Chitosan-coated liposomes for delivery to lungs by nebulisation. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2009; 71 (1): 88–95.
53. Chono S., Tanino T., Seki T., Morimoto K. Uptake of liposomes by rat alveolar macrophages: influence of size and surface mannose modification. *J. Pharm. Pharmacol.* 2007; 59 (1): 75–80.
54. Pandey R., Sharma A., Zahoor A., Sharma S., Khuller G.K., Prasad B. Poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticle-based inhalable drug delivery system for experimental tuberculosis. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003; 52: 981–986.
55. Ohashi K., Kabasawa T., Ozeki T., Okada H. One-step preparation of rifampicin/ poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticle-containing mannitol microspheres using a four-fluid nozzle spray drier for inhalation therapy of tuberculosis. *J. Control Release*. 2009; 135 (1): 19–24.
56. Ahmad Z., Sharma S., Khuller G.K. Inhalable alginate nanoparticles as antitubercular drug carriers against experimental tuberculosis. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2005; 26 (4): 298–303.
57. Pandey R., Khuller G.K. Solid lipid particle-based inhalable sustained drug delivery system against experimental tuberculosis. *Tuberculosis (Edinburgh)*. 2005; 85 (4): 227–234.
58. Orozco L.C., Quintana F.O., Beltran R.M., Moreno I., Wasserman M., Rodriguez G. The use of rifampin and isoniazid entrapped in liposomes for the treatment of murine tuberculosis. *Tubercle*. 1986; 67: 91–97.
59. Saito H., Tomioka H. Therapeutic efficacy of liposomal entrapped rifampin against *Mycobacterium avium* complex infection induced in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989; 33: 429–433.
60. Deol P., Khuller G.K. Lung specific stealth liposomes: stability, bio-distribution and toxicity of liposomal antitubercular drugs in mice. *Biochem. Biophys. Acta*. 1997; 1334 (2–3): 161–172.
61. Labana S., Pandey R., Sharma S., Khuller G.K. Chemotherapeutic activity against murine tuberculosis of once weekly administered drugs (isoniazid and rifampicin) encapsulated in liposomes. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2002; 20 (4): 301–304.
62. El-Ridy M.S., Mostafa D.M., Shehab A., Nasr E.A., Abd El-Alim S. Biological evaluation of pyrazinamide liposomes for treatment of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int. J. Pharm.* 2007; 330: 82–88.
63. Gaspar M.M., Cruz A., Penha A.F., Reymao J., Sousa A.C., Eleuterio C.V., Domingues S.A., Fraga A.G., Filho A.L., Cruz M.E., Pedrosa J. Rifabutin encapsulated in liposomes exhibits increased therapeutic activity in a model of disseminated tuberculosis. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2008; 31: 37–45.
64. Adams L.B., Sinha I., Franzblau S.G., Krahenbuhl J.L., Mehta R.T. Effective treatment of murine tuberculosis with liposome-encapsulated clofazimine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999; 43 (7): 1638–1643.
65. Klemens S.P., Cynamon M.H., Swenson C.E., Ginsberg R.S. Liposome-encapsulated-gentamicin therapy of *Mycobacterium avium* infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990; 34 (6): 967–970.
66. Gangadharam P.R., Ashtekar DA, Ghori N., Goldstein J.A., Debs R.J., Duzgunes N. Chemotherapeutic potential of liposome encapsulated streptomycin against experimental *Myc. avium* infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 28 (3): 425–435.
67. Merisko-Liversidge E., Liversidge G.G. Nanosizing for oral and parenteral drug delivery: a perspective on formulating poorly-water soluble compounds using wet media milling technology. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2011; 63 (6): 427–440.
68. Sanzhakov M.A., Medvedeva N.V., Prozorovskii V.N., Ipatova O.M. *Fosfolipidnaya nanosistema transporta dlya preparatov rifamitsinovogo ryada* [Phospholipid Drug Delivery Nanosystem for Rifamycins]. Matly Moskovskoi mezhdunar. nauch.-prakt. konf. «Farmatsevticheskie i biomeditsinskie tekhnologii» (Proceedings of the Moscow International Research and Practical Conference "Pharmaceutical and Biomedical Technology"). Moscow, 2012. pp. 256–257.

FOR CORRESPONDENCE

Sanzhakov Maksim Aleksandrovich, research scientist of the Laboratory of Phospholipid Nanomedicines and Transport Systems, Institute of Biomedical Chemistry of RAMS.

Address: 119121, Moscow, Pogodinskaya Street, 10; **tel.:** (495) 708-38-07, **e-mail:** iamaks@rambler.ru

Ipatova Olga Mikhailovna, PhD, Head of Department of Nanomedicines, Institute of Biomedical Chemistry of RAMS.

Address: 119121, Moscow, Pogodinskaya Street, 10; **tel.:** (499) 246-40-08, **e-mail:** ipatova@ibmc.msk.ru

Torkhovskaya Tat'yana Ivanovna, PhD, leading research scientist of the Laboratory of Phospholipid Nanomedicines and Transport Systems, Institute of Biomedical Chemistry of RAMS.

Address: 119121, Moscow, Pogodinskaya Street, 10; **tel.:** (499) 248-40-08, (499) 246-43-56, **e-mail:** torti@mail.ru

Prozorovskii Vladimir Nikolaevich, PhD, chief research scientist of the Laboratory of Phospholipid Nanomedicines and Transport Systems, Institute of Biomedical Chemistry of RAMS.

Address: 119121, Moscow, Pogodinskaya Street, 10; **tel.:** (495) 708-38-07, **e-mail:** vladimir.prozorovskiy@ibmc.msk.ru

Tikhonova Elena Georgievna, MD, leading research scientist of the Laboratory of Phospholipid Nanomedicines and Transport Systems, Institute of Biomedical Chemistry of RAMS.

Address: 119121, Moscow, Pogodinskaya Street, 10; **tel.:** (499) 246-36-31, **e-mail:** elena.tikhonova@ibmc.msk.ru

Druzhilovskaya Oksana Sergeevna, MD, research scientist of the Laboratory of Phospholipid Nanomedicines and Transport Systems, Institute of Biomedical Chemistry of RAMS.

Address: 119121, Moscow, Pogodinskaya Street, 10; **tel.:** (499) 246-36-31, **e-mail:** strekalova.oksana@ibmc.msk.ru

Medvedeva Nataliya Vilorikovna, MD, leading research scientist of the Laboratory of Phospholipid Nanomedicines and Transport Systems, Institute of Biomedical Chemistry of RAMS.

Address: 119121, Moscow, Pogodinskaya Street, 10; **tel.:** (495) 708-38-07, **e-mail:** nmedvedeva@ibmc.msk.ru