

СВЯЗАННЫЙ С АЛЬБУМИНОВЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ ПАКЛИТАКСЕЛ – ПЕРВЫЕ ШАГИ НАНОТЕХНОЛОГИЙ В КЛИНИЧЕСКУЮ ПРАКТИКУ

Р.Н. Аляутдин, Б.К. Романов, В.К. Лепакхин,
Н.Д. Бунятян, В.А. Меркулов, А.Н. Миронов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

***Резюме:** Паклитаксел является эффективным противоопухолевым средством, используемым для лечения рака молочной железы, легких, желудка и поджелудочной железы. Однако, его побочные эффекты и использование токсичного Кремофора EL в качестве растворителя ограничивают спектр применения этого препарата. Связанный с альбуминовыми наночастицами паклитаксел (САН-паклитаксел) целенаправленно транспортируется в опухолевые ткани, что увеличивает его противоопухолевый эффект и снижает выраженность побочного действия.*

***Ключевые слова:** нанотехнологии, альбуминовые наночастицы, паклитаксел*

NANOPARTICLE ALBUMIN-BOUND PACLITAXEL – FIRST STEP OF NANOTECHNOLOGY INTO CLINICAL PRACTICE

R.N. Alyautdin, B.K. Romanov, V.K. Lepakhin,
N.D. Bunyatyan, V.A. Merkulov, A.N. Mironov

Federal State Budgetary Institution
“Scientific Center for Expertise of Medical Application Products”
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

***Abstract:** Paclitaxel is an effective antitumor agent used for treatment of breast cancer, lung, stomach and pancreas. However, its own adverse effects and the use of toxic Cremophor EL as the solvent limit the application range of this drug. Associated with the albumin-bound nanoparticle paclitaxel (paclitaxel SAN) specifically transported into tumor tissue. This leads to an increase in the antitumor effect, and it reduces the severity of side effects.*

***Key words:** nanotechnology, albumin nanoparticles, paclitaxel.*

Понятие наномедицина подразумевает медицинское применение продуктов и устройств, основанных на базе нанотехнологий, включая создание новых лекарственных препаратов и доставки генов.

Основанные на нанотехнологиях лекарственные препараты («нанолечения») производятся методами, обеспечивающими, как правило, размер объекта от 1 до 100 нм. Этот

диапазон является «областью нанотехнологий».

Важно, что эти размеры не представляются критичным для свойств лекарственных препаратов и их распределения в организме.

Более того, это позволяет улучшить растворимость и биодоступность, а также снизить токсичность лекарственных препаратов, что обусловлено новыми свойствами наночастиц в организме и огромной поверхностью, около 1000 м²/г [1].

Часто указанные преимущества достигаются при использовании коллоидных систем значительно большего размера, как правило 150-300 нм, а порой и до 1000 нм (полимерные наночастицы, липосомы). Тем не менее, в отношении этих субмикронных систем в медицине также используется термин наноструктуры.

Очевидно, это обусловлено тем, что термин наночастицы в отношении объектов 300-500 нм был впервые использован в медицине и лишь позже в технике [2].

Наноразмерные системы доставки лекарственных препаратов наиболее интенсивно внедряются в онкологию. Это связано как особенностями опухолевых тканей, так и уникальными свойствами наноносителей.

Фактором, способствующим проникновению наноразмерных систем доставки лекарств в опухоль, является высокая порозность сосудов, активно образуемых в этих тканях.

Капилляры и артериолы новообразований фенестрированы в значительно большей степени, чем в норме, что определяет пассивное проникновение наноносителей к клеткам опухоли [3].

Другой фактор тропности наноносителей к опухоли – высокая фагоцитирующая активность раковых клеток.

Фактором, во многом затрудняющим противоопухолевую терапию, является экспрессия транспортных мембранных белков, обеспечивающих «выкачивание» препарата (чаще всего липофильного) из клетки.

Эта барьерная функция определяется наличием ABC – транспортеров, представляющих самое большое семейство белков, обеспечивающих не только барьерную функцию ГЭБ, но также лимитирующих транспорт лекарственных веществ в опухоли и в головной мозг.

Эти транспортеры относятся к мембранным белкам, состоящим из многих доменов и использующих энергию АТФ для транспорта веществ через клеточные мембраны [4].

В это семейство белков входят MDR1/ABCB1 (белки множественной лекарственной устойчивости; Р-гликопротеин, Р-рр), белки множественной устойчивости MRP4/ABCC4, а также BCRP/ABCG2 (белок устойчивости опухоли молочной железы).

Субстратами для Р-рр, основного фактора устойчивости, являются противоопухолевые средства этопосид, доксорубин, винкристин; блокаторы кальциевых каналов верапамил и дилтиазем; ингибиторы ВИЧ протеазы индинавир и ритонавир; гормоны тестостерон, прогестерон; иммунодепрессанты такролимус, циклоспорин; эритромицин, дигоксин, хинидин, фексофенамид, лоперамид.

Транспортер MRP4/ABCC4 имеет сродство к нуклеозидным аналогам, к числу которых относятся противоопухолевые средства 6-меркаптопурин и метотрексат, противовирусные препараты адефовир и тенофовир.

Кроме того, этот фермент «выкачивает» диуретики фуросемид и трихлорметиазид, антибиотики цефазолин и цефтизоксим.

Субстратами для BCRP/ABCG2 являются противоопухолевые средства метотрексат, митоксантрон, топотекан и иматиниб; статины розувастатин и питавастатин, а также дантролен, празозин, нитрофурантоин [5, 6].

Таким образом, P-gp и другие кассетные транспортные системы являются основной причиной развития устойчивости опухолевых клеток к действию цитостатиков.

Вместе с тем, было показано, что некоторые лекарственные вещества, например, верапамил и циклоспорин, блокируют активность P-gp.

В настоящее время целенаправленно синтезированы несколько поколений ингибиторов P-gp, однако, наличие побочных эффектов затрудняет их использование с целью повышения эффективности противоопухолевой терапии [7].

Лекарственные препараты, включенные в наноразмерные носители – полимерные наночастицы и липосомы, способны преодолевать барьер, составленный транспортными белками и увеличивать интернализацию этих композиций как в периферических тканях, так и в ЦНС. [8, 9].

Преимущества наноразмерных носителей были успешно использованы при создании инновационного препарата паклитаксела, сорбированного на альбуминовых наночастицах (паклитаксел-САН).

Паклитаксел относится к числу противоопухолевых препаратов, используемых для лечения наиболее распространенных и устойчивых к терапии новообразований в яичниках, молочных железах, желудке и поджелудочной железе, при немелкоклеточном раке легкого.

Этот препарат был получен в 1962 году из коры тихоокеанского тиса *Taxus brevifolia* в рамках програм-

мы по скринингу противоопухолевых соединений растительного происхождения, проводимой Национальным противо-раковым институтом США.

Ботаник А. Barclay собрал 650 образцов листьев, коры, корней, шишек этого тиса по всему западному побережью США и в результате скрининга на противоопухолевую активность был найден паклитаксел. В ходе выполнения этой программы были проанализированы тысячи образцов различных растений, но среди изученных соединений лишь паклитаксел оказался действительно великой находкой. Позже аналогично, но из иголок европейского тиса был выделен предшественник другого крайне эффективного таксана доцитаксела [10].

Практическое использование паклитаксела затруднено из-за очень высокой липофильности. Для его клинического применения была создана лекарственная форма, позволяющая повысить гидрофильность этого таксана. В качестве растворителя использовался Кремофор EL, неионный сурфактант на основе полиоксиэтилированного касторового масла и этанола в соотношении 50:50. Перед введением препарат дополнительно растворяется в 5-20 раз физиологическим раствором. Однако, используемый растворитель не индифферентен в биологических системах. В частности полиоксиэтилированное касторовое масло является биологически и фармакологически активными и вымывает пластификаторы из стандартных трубок для внутривенного введения, в частности ди-(2-этилгексил)-фталат (ДЕНП). Это соединение обладает выраженным гистаминогенным действием с развитием гиперчувствительности и анафилактического шока [11]. При проведении I-й фазы клинических исследований

реакции гиперчувствительности возникали у 20%-40% испытуемых [12]. Наряду с этим развивались гиперлипидемия, нарушение баланса липидов крови, необратимая нейропатия, обусловленная демиелинизацией и аксональная дегенерция. Кроме того Кремофор ЕL вызывает нейтропению [13, 14].

Содержащая Кремофор ЕL лекарственная форма паклитаксела потребовала специальных систем для внутривенного введения с целью уменьшения выделения ДЕНР. Кроме того с целью профилактики осложнений скорость введения препарата была значительно снижена и проводилась премедикация, включающая дексаметазон, дифенгидрамин и блокаторы H_2 рецепторов. Несмотря на проводимую профилактику, нежелательные

реакции все-таки возникали, хотя редко приводили к смерти [15].

Наряду с этим, Кремофор ЕL ограничивает поступление паклитаксела в опухоль за счет образования мицелл, которые способны изменить фармакокинетику препарата [16]. Наконец, касторовое масло способно угнетать проникновение паклитаксела через плазматические мембраны [17].

Указанные выше факторы послужили движущей силой для оптимизации лекарственной формы паклитаксела.

Нанотехнологической формой паклитаксела стал паклитаксел-САН, альбуминовые наночастицы с паклитакселом размером 130 нм, которые в растворе дезагрегируют, образуя комплексы размером 10 нм (Рис.1 - А).

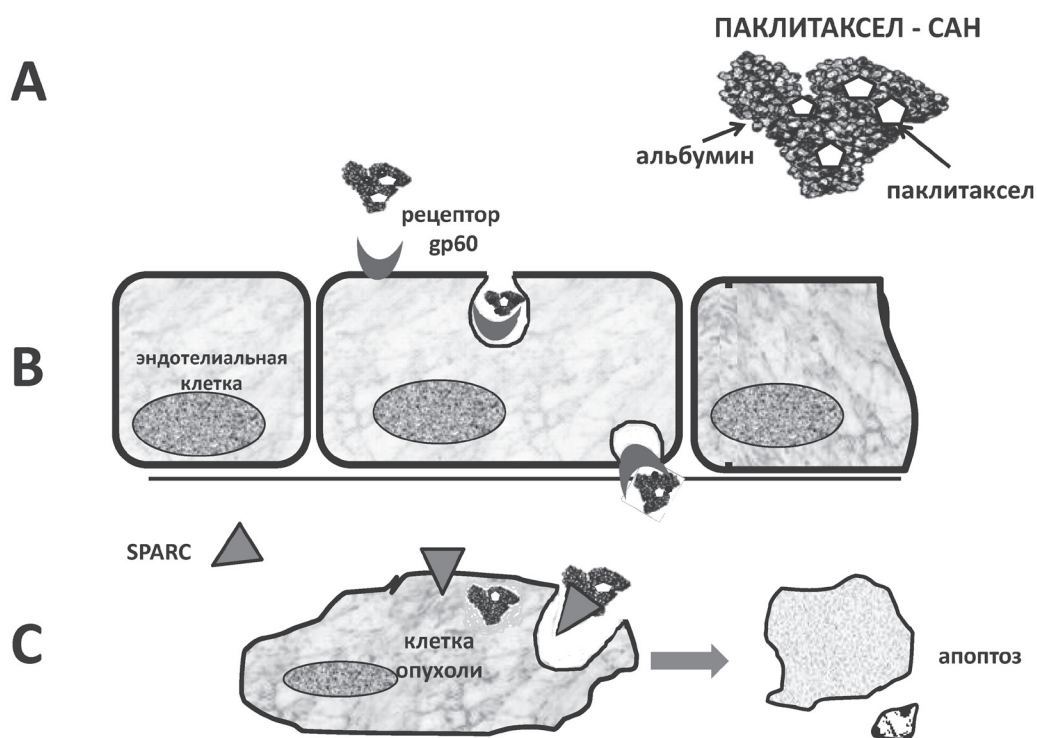


Рисунок 1. Механизмы направленного транспорта Паклитаксела-САН в клетки опухоли

Обращение к альбуминовым наночастицам не случайно.

Действительно, альбумин не обладает токсичностью многих полимерных носителей, в значительной степени связывает высоколипофильные соединения и обеспечивает транспорт сорбированного лекарственного вещества в клетку, что позволяет отказаться от высокотоксичного растворителя Кремофор EL [18].

Более того, альбуминовые носители размером 10 нм неспецифически связываются с клеткой, обеспечивая интрацеллюлярную доставку препарата.

Однако, основным преимуществом альбумина является способность к активному транспорту лекарственных препаратов внутрь эндотелиальной клетки.

Это обусловлено тем фактом, что на поверхности клетки экспрессируется специфический субстрат для связывания альбумина, рецептор gr60. Взаимодействие с этим рецептором стимулирует фагоцитоз комплекса альбумин-gr60 клеткой. Последующий экзоцитоз через базолатеральную часть клетки обуславливает активную доставку связанного с альбумином препарата в интерстиций опухоли (Рис. 1В).

В ткани опухоли есть еще один вектор для транспортировки паклитаксел-САН, но уже в клетку опухоли - SPARC (кислый секретруемый белок, богатый цистеином) - кальций-связывающий гликопротеин, секретруемый многими типами клеток.

Он может экспрессироваться при заживлении ран, миграции клеток и взаимодействиях клетка-матрикс, однако его суперэкспрессия наблюдается при метастатических опухолевых процессах.

Избыточная экспрессия SPARC, как полагают, играет определенную роль в клеточной инвазии и ангиогенезе.

Он присутствует в новообразованиях как в свободном состоянии, так и на поверхности опухолевых клеток. SPARC связывается с альбуминовой основой паклитаксел-САН и обеспечивает его доставку в опухолевые клетки (Рис.1С).

Таким образом, повышенная концентрация SPARC в опухоли обеспечивает избирательность доставки противоопухолевого агента по сравнению со здоровыми тканями [19, 20].

Доклинические исследования показали, что связывание паклитаксел-САН с эндотелиальными клетками сосудов в 10 раз выше, чем паклитаксела, а трансцитоз паклитаксел-САН протекает в 4 раза активнее.

В экспериментах паклитаксел-САН значительно превосходил паклитаксел по противоопухолевой активности и его профиль был безопаснее [20]. Для паклитаксел-САН характерен более высокий показатель C_{max} и AUC [21].

В клинической практике паклитаксел-САН имеет широкий спектр противоопухолевой активности, особенно при суперэкспрессии в опухоли SPARC.

К таким опухолям относят злокачественные новообразования молочных желез, легких, желудка, поджелудочной железы. Этим определяется выбор паклитаксел-САН как противоопухолевого средства.

Результаты лечения этим препаратом положительно коррелируют с уровнем SPARC. При этом выраженность побочных эффектов нейропатии, особенно выше 3 стадии, нейтропении, артралгии и миалгии на фоне паклитаксел-САН была значительно ниже, чем паклитаксела.

При использовании паклитаксел-САН реже возникали анемия и тромбоцитопения [22, 23].

Таким образом, появление паклитаксела во многом изменило тактику противоопухолевой терапии, однако, необходимость использования Кремофора ЕL ограничивала его использование.

Успешное применение паклитаксела-САН подтвердило необходимость широкого применения нанотехнологий.

В настоящее время различные фазы клинических испытаний успешно проходят липосомальная и мицеллярная формы паклитаксела.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bawa R. Patents and nanomedicine.// *Nanomedicine* 2007; 2: 351–374.
2. Kreuter J, Speiser PP. New adjuvants on a polymethylmethacrylate base.// *Infect Immun.* 1976 Jan;13(1):204–10.
3. Nishida N, Hirohisa Yano H, Nishida T, et al. Angiogenesis in cancer. // *Health Risk Manag* 2006; 2(3): 213–219.
4. Bernacki J, Dobrowolska D., Nierwicska et al. Physiology and pharmacological role of the blood-brain barrier// *Pharmacological Reports*. 2008. Vol.- 60. P. 600–622.
5. Sabeque A.J., Wandel C., He H. Increased drug delivery to the brain by P-glycoprotein inhibitors// *Clin. Pharmacol. Ther.* 2000.- Vol. 68.- P. 231- 237.
6. Rogalska A, Szwed M, Rychlik B. The connection between the toxicity of anthracyclines and their ability to modulate the P-glycoprotein-mediated transport in A549, HepG2, and MCF-7 cells. *Scientific World Journal*. 2014. V. 19. P. 819548.
7. Alyautdin, R., Khalin, I., Nafeeza, M. I. et al. Nanoscale Drug Delivery Systems and the Blood_Brain Barrier.// *Int. J. Nanomed.* 2014.V. 9. P. 795–811.
8. Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis.// *Adv Drug Deliv Rev.* 2002. V.54(5) .P.631–51.
9. Шаменков Д.А., Петров В.Е., Аляутдин Р.Н. Влияние апополипротеинов на транспорт даларгина через гематоэнцефалический барьер. // *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2006. №12. С. 659–662.
10. Miele E., Spinelli G., Ermanno Miele. Albumin-bound formulation of paclitaxel (Abraxane®ABI-007) in the treatment of breast cancer.// *Int. J. of Nanomed.* 2009. V.4. P.99–105.
11. Rowinsky EK, Donehower RC. Paclitaxel (Taxol).// *N Engl J Med.*1995. V.332. P.1004–1014.
12. Weiss RB, Donehower RC, Wiernik PH, et al. Hypersensitivity reactions from Taxol.// *J. Clin. Oncol.* 1990. V.8. P.1263–1268.
13. Gianni L, Kearns CM, Gianni A, et al. Nonlinear pharmacokinetics and metabolism of paclitaxel and its pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships in humans. // *J. Clin. Oncol.* 1995. V.13. P.180–190.
14. Kloover JS, den Bakker MA, Gelderblom H, et al. Fatal outcome of a hypersensitivity reaction to paclitaxel: A critical review of premedication regimens. *Br. J. Cancer.* //2004. V.90.P. 304–305.
15. ten Tije AJ, Verweij J, Loos WJ, et al. Pharmacological effects of formulation vehicles: Implications for cancer chemotherapy. *Clin. Pharmacokinet.* 2003. V.42. P.665–685.
16. Nyman DW, Campbell KJ, Hersh E, et al. Phase I and pharmacokinetics trial of ABI-007, a novel nanoparticle formulation of paclitaxel in patients with advanced nonhematologic malignancies. *J. Clin. Oncol.* //2005. V.23(31). P.7785–7793.
17. Hawkins MJ, Soon-Shiong P, Desai N. Protein nanoparticles as drug carriers in clinical medicine.// *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008.V. 60. P.876–885.
18. Desai N, Trieu V, Yao Z, et al.: Increased antitumor activity, intratumor paclitaxel concentrations, and endothelial cell transport of cremophor-free, albumin- bound paclitaxel, ABI- 007, compared with cremophor-based paclitaxel. // *Clin. Cancer Res.* 2012. V. 14. P. 1317–1324.

19. Xia C.Q., Smith P. Drug Efflux Transporters and Multidrug Resistance in Acute Leukemia: Therapeutic Impact and Novel Approaches to Mediation.// *Mol. Pharmacol.* 2012. V. 82.P. 1008–1021.
20. Salah-Eddin Al-Batrana Michael Geisslerb Thomas Seufferleinc et al/ Nab-Paclitaxel for Metastatic Pancreatic Cancer: Clinical Outcomes and Potential Mechanisms Action.// *Oncol. Res Treat.* 2014V. 37. P.128–134.
21. Gardner ER, Dahut WL, Scripture CD, et al.: Randomized crossover pharmacokinetic study of solvent-based paclitaxel and nab-paclitaxel.// *Clin Cancer Res.* 2008.V14. P .4200–4205.
22. Ibrahim NK, Desai N, Legha S, et al.: Phase I and pharmacokinetic study of ABI-007, a Cremophorfree, protein-stabilized, nanoparticle formulation of paclitaxel.// *Clin. Cancer Res.* 2002. V.8. P. 1038–1044.
23. Socinski MA, Bondarenko I, Karaseva N. Weekly nab-paclitaxel in combination with carboplatin versus solvent-based paclitaxel plus carboplatin as first-line therapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer: final results of a phase III trial// *J. Clin. Oncol.* 2012. V.30. P.2055-2062.