

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 геной 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,

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 *Corrallinaceae*. 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, слагающиеся 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 $8,7\text{\AA}$. 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 урсных 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*-гулуруновой кислоты соседних полимерных цепей и ионом металла. В то же время пространственная структура остатков β -*D*-маннуруновой кислоты не укладывается в модель egg-box. Поэтому, желирующие свойства альгинатов обусловлены главным образом количеством и распределением остатков гулуруновой 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 этилендиаминтетрауксусной 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 биодegradации. 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 (Rodophyta), 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 иммуно-терапевтических и хемотерапевтических 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 гепатопротекторным и нефропротекторным 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 рН. 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 рН.

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-тиоэтиламинидин. 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. Карбоксиметил-овые дериваты получают путем введения $-\text{CH}_2\text{COOH}$

групп в 6-O 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, карбоксиметил-овые 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 (C6–C16), 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

гиперинсулинемию, вызванную подкожным введением гормона. Однако энтеральная доставка инсулина характеризуется низкой биодоступностью из-за его предсистемной деградаци и слабым проникновением через кишечный эпителий. Методом ионотропного желирования были получены наночастицы хитозана с поли- γ -глутаминовой кислотой, обеспечившие устойчивость инсулина к протеолитическим ферментам. Флуоресцентно-микроскопические исследования *in vivo* с наночастицами хитозан-поли- γ -глутаминовой кислоты, загруженными инсулином, показали, что после перорального введения инсулин может абсорбироваться в системный кровоток, в то время как большая часть хитозана остается в структурах микроворсинок [36]. У диабетических крыс эти наночастицы вызывали достоверный гипогликемический эффект в течение по крайней мере 10 часов, при этом относительная биодоступность инсулина в сравнении с подкожным введением составила 15% [37]. Для дальнейшего увеличения биодоступности инсулина наночастицы помещали в капсулы, растворимые в кишечнике. Это позволило защитить нагруженные инсулином наночастицы от контакта с кислой средой желудка, но приводило к его быстрому высвобождению в проксимальном сегменте тонкой кишки. Тем не менее относительная биодоступность инсулина достигла 20% [35]. Дополнительное введение в наночастицы комплексирующих агентов, таких как диэтилентриаминпентауксусная кислота, ингибирующих кишечные протеазы и влияющих на прочность эпителиальных плотных контактов, позволяет увеличить абсорбцию инсулина на всем протяжении тонкой кишки [37].

Кватернизированный дериват хитозана с повышенной водорастворимостью – триметилхитозан – способен открывать плотные контакты кишечного эпителия при физиологических значениях водородного показателя, при которых нативный хитозан нерастворим и неэффективен. Самосборные наночастицы триметил-хитозан-поли- γ -глутаминовой кислоты могут открывать плотные контакты модельных клеток Caco-2, облегчая транспорт инсулина по парацеллюлярному пути [26]. Эффективность тиолированного хитозана как системы доставки белков может быть обусловлена его выраженной мукоадгезивностью, однако, нерастворимость при нейтральных значениях pH ограничивает действие этого соединения. Для преодоления описанного недостатка были получены наночастицы триметил-хитозан-цистеина, которые усиливают клеточную проницаемость клеток Caco-2 в 1,7–3 раза, транспорт инсулина в кишечнике крысы – в 1,7–2,6 раза и поглощение в пейеровых бляшках – в 1,7–5 раз [45]. Наночастицы из карбоксилированного хитозана, трансплантированного в полиметилметакрилат, в качестве носителя инсулина, при пероральном введении вызывали гипогликемический эффект у крыс, и фармакологическая биодоступность составила 9,7%.

Причем выход инсулина был медленным в кислой среде (pH 2,0) и быстрым – в нейтральной (pH 6,8–7,4), свидетельствуя о защите загруженного инсулина от кислого окружения в желудке [10].

Еще одна система, состоящая из лаурилсукцинат-хитозана и натрия триполифосата, была разработана для пероральной доставки инсулина. Она позволяет значительно повысить мукоадгезивность нативного хитозана и парацеллюлярную проницаемость инсулина и снизить уровень глюкозы в крови у диабетических крыс в течение 6 часов. Повышенная мукоадгезивность наночастиц может быть обусловлена лауриловыми группами, которые осуществляют гидрофобное взаимодействие с белковыми доменами в муцине. С помощью конфокального микроскопического исследования ФИТЦ-меченного инсулина показано, что наночастицы на основе хитозан-декстран сульфата и хитозан-альгината у диабетических крыс адгезируются в слизистой оболочке кишечника и абсорбируются в кишечном эпителии. При этом гипогликемические эффекты продолжались более 24 и 18 часов, соответственно [31].

Экзендин-4. Сравнительно недавно в слюне ядовитой ящерицы из рода ядозубов был обнаружен пептид, состоящий из 39 аминокислот, обладающий мощным инсулинотропным действием и разрешенный для применения в качестве дополнительной терапии у больных диабетом 2-го типа, неспособных достичь гликемического контроля пероральными антидиабетическими препаратами. Однако его использование ограничено необходимостью частых инъекций. Разработанные для перорального применения кишечные капсулы, содержащие нанокapsулы с хитозан- γ -глутаминовой кислотой, загруженными экзендином-4, обеспечивают максимальную концентрацию последнего в плазме через 5 часов после введения крысам. Капсулы остаются интактными в желудке, но растворяются в проксимальном сегменте кишечника и обеспечивают биодоступность в 15%. Абсорбированный экзендин-4 стимулирует секрецию инсулина и обеспечивает пролонгированный гипогликемический эффект [39].

Лососевый кальцитонин – пептидный гормон, состоящий из 32 аминокислот, аналог кальцитонина человека, но почти в 50 раз активнее. Нанокapsулы хитозана оказались эффективным средством повышения оральной абсорбции кальцитонина и снижения уровня кальцемии у крыс. Эти эффекты объясняются уникальной ролью мукоадгезии хитозана в усилении взаимодействия нанокapsул с абсорбтивным эпителием. Важная роль в стабилизации нанокapsул принадлежит также полиэтиленгликолевому покрытию. *In vivo* исследование показали значительное снижение уровня сывороточного кальция в течение по крайней мере 24 часов, и способность нанокapsул, покрытых хитозан-полиэтиленгликолем, усиливать и пролонгировать кишечную абсорбцию кальцитонина [28].

Нуклеиновые кислоты не могут проходить через кишечный эпителий вследствие их большого молекулярного размера, гидрофильности и отрицательного заряда. Они чрезвычайно лабильны в биологической среде и легко разрушаются нуклеазами, тем самым проявляя низкую трансфекционную активность. Поэтому разработка эффективных носителей для энтеральной доставки нуклеиновых кислот к клеткам-мишеням, также как и обеспечение их защиты, клеточной интернализации, эндосомального ухода и ядерного захвата, является предпосылкой для реализации их терапевтических функций. Адекватным морфологическим субстратом для этого являются М-клетки пейеровых бляшек, которые могут транспортировать разнообразные материалы, в том числе нано- и микрочастицы.

Показано, что хитозан и его дериваты способны конденсировать и инкапсулировать плазмидные ДНК и формировать комплексы из наночастиц, способные к адгезии к кишечному эпителию, переходу через слизистый барьер за счет М-клеток и трансфекции в эпителиальные или иммунные клетки лимфоидной ткани кишки [12]. Эффективность доставки генов к эпителиальным клеткам кишечника была выявлена в опытах, в которых ДНК-хитозановые наночастицы, несущие ген эритропоэтина грызунов, повышали уровень гематокрита на 25 % [7]. На мышинной модели гемофилии А продемонстрирована возможность использования хитозана в качестве переносчика генов для пероральной доставки ДНК фактора VIII свертывания крови [5].

Гепарин. Для пероральной доставки гепарина, выскосульфатированного глюкозаминогликана, разработана система из наночастиц, упакованная хитозаном с помощью метода ионного желирования для образования комплексов хитозан/гепарин [8].

Эксперименты *in vitro* доказали, что эта система способна открывать плотные контакты между клетками Сасо-2 и обеспечивать транспорт гепарина путем пассивной диффузии по парацеллюлярному пути. Никакой значимой антикоагулянтной активности не обнаружили после орального применения свободной формы гепарина у крыс, что указывает на слабую кишечную абсорбцию гепарина без соответствующей системы доставки. Наоборот, пероральное введение такой же дозы хитозан/гепарина в виде наночастиц обеспечивает его антифактор Ха-активность в плазме на уровне 0,2–0,3 МЕ/мл в течение 12 часов [19]. Эти результаты свидетельствуют о том, что наночастицы хитозана существенно повышают кишечную абсорбцию гепарина, обеспечивая 20,5 % биодоступность.

Заключение

Несмотря на то, что полисахаридные наночастицы представляются перспективными для использования в качестве носителей для пероральной доставки

белков, нуклеиновых кислот и полисахаридов, никаких клинических испытаний пока не проводилось. Кроме того, токсикологические вопросы этих вновь появившихся наносистем остаются одной из проблем фармакологии и биомедицины. Нативные углеводные биополимеры рассматриваются безопасными для энтерального введения, но их свойства могут полностью измениться после химической модификации. Токсичность каждого деривата, как в свободной форме, так и в форме наночастиц, должна быть оценена индивидуально. Для демонстрации приемлемой эффективности и безопасности наносистем, основанных на пектинах, альгинатах, хитозанах, каррагинанах, фукоиданах и их дериватов необходимы дальнейшие доклинические исследования. Надо полагать, что дополнительные доклинические испытания продвигнут и инициируют необходимость в клинических испытаниях на человеке, которые приведут к реализации биополимерных наносистем для энтеральной доставки терапевтических макромолекул.

Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации (проект № 413).

Литература

1. Оводов Ю.С. Современные представления о пектиновых веществах // Биоорганическая химия. 2009. Т. 35, № 3. С. 293–310.
2. Хотимченко Ю.С., Хасина Э.И., Ковалев В.В. [и др.]. Эффективность пищевых некрахмальных полисахаридов при экспериментальном токсическом гепатите // Вопросы питания. 2000. Т. 69, № 1–2. С. 22–26.
3. Adhikari U., Mateub C.G., Chattopadhyaya K.C. [et al.]. Structure and antiviral activity of sulfated fucans from *Stoechospermum marginatum* // Phytochemistry. 2006. Vol. 67. P. 2474–2482.
4. D'Ayala G.G., Malinconico M., Laurienzo P. Marine derived polysaccharides for biomedical applications: chemical modification approaches // Molecules. 2008. Vol. 13. P. 2069–2106.
5. Bowman K., Sarkar R., Raut S., Leong K.W. Gene transfer to hemophilia A mice via oral delivery of F VIII–chitosan nanoparticles // J. Control. Release. 2008. Vol. 132. P. 252–259.
6. Caffall K.H., Mohnen D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharide // Carbohydr. Res. 2009. Vol. 344. P. 1879–1900.
7. Chen J., Yang W.L., Li G. [et al.]. Transfection of mEpo gene to intestinal epithelium in vivo mediated by oral delivery of chitosan-DNA nanoparticles // World J. Gastroenterol. 2004. Vol. 10. P. 112–116.
8. Chen M.C., Wong H.S., Lin K.J. [et al.]. The characteristics, biodistribution and bioavailability of a chitosan-based nanoparticulate system for the oral delivery of heparin // Biomaterials. 2009. Vol. 30. P. 6629–6637.
9. Cicala C., Morello S., Alfieri A. [et al.]. Haemostatic imbalance following carrageenan-induced rat paw oedema // Eur. J. Pharmacol. 2007. Vol. 577. P. 156–161.
10. Cui F., Qian F., Zhao Z. [et al.]. Preparation, characterization, and oral delivery of insulin loaded carboxylated chitosan grafted poly (methylmethacrylate) nanoparticles // Biomacromolecules. 2009. Vol. 10. P. 1253–1258.
11. Florence A.T. Nanoparticle uptake by the oral route: fulfilling its potential? // Drug Discov. Today. 2005. Vol. 2. P. 75–81.
12. Ishii T., Okahata Y., Sato T. Mechanism of cell transfection with plasmid/chitosan complexes // Biochim. Biophys. Acta. 2001. Vol. 1514. P. 51–64.

13. Kadiyala I., Loo Y., Roy K. [et al.]. Transport of chitosan-DNA nanoparticles in human intestinal M-cell model versus normal intestinal enterocytes // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2010. Vol. 39. P. 103–109.
14. Khotimchenko M., Kovalev V., Khotimchenko Y.S. Comparative equilibrium studies of sorption of Pb (II) ions by sodium and calcium alginate // *Journal of Environmental Sciences*. 2008. Vol. 20. P. 827–831.
15. Khotimchenko M.Y., Kolenchenko E.A., Khotimchenko Y.S. [et al.]. Cerium binding activity of different pectin compounds in aqueous solutions // *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2010. Vol. 77. P. 104–110.
16. Khotimchenko M.Y., Kolenchenko E.A., Khotimchenko Y.S. Zinc-binding activity of different pectin compounds in aqueous solutions // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2008. Vol. 323. P. 216–222.
17. Khotimchenko M., Serguschenko I., Khotimchenko Y.S. Lead absorption and excretion in rats given insoluble salts of pectin and alginate // *Int. J. Toxicol.* 2006. Vol. 25. P. 195–203.
18. Khotimchenko Y.S., Khotimchenko M.Y. Healing and preventive effects of calcium alginate on carbon tetrachloride induced liver injury in rats // *Mar. Drugs*. 2004. Vol. 2. P. 108–122.
19. Kim S.K., Vaishali B., Lee E. [et al.]. Oral delivery of chemical conjugates of heparin and deoxycholic acid in aqueous formulation // *Thromb. Res.* 2006. Vol. 117. P. 419–427.
20. Laurienzo P. Marine polysaccharides in pharmaceutical applications: An Overview // *Mar. Drugs*. 2010. Vol. 8. P. 2435–2465.
21. Lee K.W., Jeong D., Na K. Doxorubicin loading fucoidan acetate nanoparticles for immune and chemotherapy in cancer treatment // *Carbohydr. Polym.* 2013. Vol. 94. P. 850–856.
22. Lewis J.G., Stanley N.F., Guist G.G. Commercial production and applications of algal hydrocolloids // *Algae and Human Affairs*. Cambridge: University Press, 1988. P. 205–236.
23. Li B., Lu F., Wei X., Zhao R. Fucoidan: structure and bioactivity // *Molecules*. 2008. Vol. 13. P. 1671–1695.
24. Lira M.C., Santos-Magalhães N.S., Nicolas V. [et al.]. Cytotoxicity and cellular uptake of newly synthesized fucoidan-coated nanoparticles // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2011. Vol. 79. P. 162–170.
25. Martien R., Loretz B., Thaler M. [et al.]. Chitosan–thioglycolic acid conjugate: an alternative carrier for oral nonviral gene delivery? // *Journal of Biomedical Materials Research*. 2007. Vol. 82. P. 1–9.
26. Mi F.L., Wu Y.Y., Lin Y.H. [et al.]. Oral delivery of peptide drugs using nanoparticles self-assembled by poly(γ -glutamic acid) and a chitosan derivative functionalized by trimethylation // *Bioconjug. Chem.* 2008. Vol. 19. P. 1248–1255.
27. Morris G., Kök S., Harding S., Adams G. Polysaccharide drug delivery systems based on pectin and chitosan // *Biotechnol. Gen. Eng. Rev.* 2010. Vol. 27. P. 257–284.
28. Prego C., Torres D., Fernandez-Megia E. [et al.]. Chitosan-PEG nanocapsules as new carriers for oral peptide delivery: effect of chitosan PEGylation degree // *J. Control. Release*. 2006. Vol. 111. P. 299–308.
29. Pomin V.H., Mourão P.A.S. Structure, biology, evolution, and medical importance of sulfated fucans and galactans // *Glycobiology*. 2008. Vol. 18. P. 1016–1027.
30. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications // *Prog. Polym. Sci.* 2006. Vol. 31. P. 603–632.
31. Sarmento B., Ribeiro A., Veiga F. [et al.]. Alginate/chitosan nanoparticles are effective for oral insulin delivery // *Pharm. Res.* 2007. Vol. 24. P. 2198–2206.
32. Shahidi F., Abuzaytoun R. Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects // *Adv. Food Nutr. Res.* 2005. Vol. 49. P. 189–195.
33. Sadeghi A., Dorkoosh F., Avadi M. [et al.]. Permeation enhancer effect of chitosan and chitosan derivatives: comparison of formulations as soluble polymers and nanoparticulate systems on insulin absorption in Caco-2 cells // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008. Vol. 70. P. 270–278.
34. Shibata H., Kimura-Takagi I., Nagaoka M. [et al.]. Inhibitory effect of Cladosiphon fucoidan on the adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric cells // *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 1999. Vol. 45. P. 325–336.
35. Sonaje K., Chen Y.J., Chen H.L. [et al.]. Enteric-coated capsules filled with freeze-dried chitosan/poly (γ -glutamic acid) nanoparticles for oral insulin delivery // *Biomaterials*. Vol. 2010. Vol. 31. P. 3384–3394.
36. Sonaje K., Chuang E.Y., Lin K.J. [et al.]. Opening of epithelial tight junctions and enhancement of paracellular permeation by chitosan: microscopic, ultra-structural and computed-tomographic observations // *Molecular Pharmacology*. 2012. Vol. 9. P. 1271–1279.
37. Sonaje K., Lin Y.H., Juang J.H. [et al.]. In vivo evaluation of safety and efficacy of self-assembled nanoparticles for oral insulin delivery // *Biomaterials*. 2009. Vol. 30. P. 2329–2339.
38. Sonaje K., Lin K.J., Tseng M.T. [et al.]. Effects of chitosan-nanoparticle-mediated tight junction opening on the oral absorption of endotoxins // *Biomaterials*. 2011. Vol. 32. P. 8712–8721.
39. Szayna M., Doyle M.E., Betkey J.A. [et al.]. Exendin-4 decelerates food intake, weight gain, and fat deposition in Zucker rats // *Endocrinology*. 2000. Vol. 141. P. 1936–1941.
40. Tsukita S., Furuse M. Pores in the wall: claudins constitute tight junction strands containing aqueous pores // *J. Cell Biol.* 2000. Vol. 149. P. 13–16.
41. Wong T.W., Colombo G., Sonvico F. Pectin matrix as oral drug delivery vehicle for colon cancer treatment // *AAPS PharmSciTech*, 2011. Vol. 12, No. 1. P. 201–214.
42. Wong T.W. Alginate graft copolymers and alginate-co-excipient physical mixture in oral drug delivery // *J. Pharm. Pharmacol.* 2011. Vol. 63. P. 1497–1512.
43. Yeh T.H., Hsu L.W., Tseng M.T. [et al.]. Mechanism and consequence of chitosan-mediated reversible epithelial tight junction opening // *Biomaterials*. 2011. Vol. 32. P. 6164–6173.
44. Yermak I.M., Khotimchenko Yu.S. Chemical properties, biological activities and applications of carrageenans from red algae // *Recent Advanced Marine Biotechnol.* 2003. Vol. 9. P. 207–255.
45. Yin L., Ding J., He C. Drug permeability and mucoadhesion properties of thiolated trimethyl chitosan nanoparticles in oral insulin delivery // *Biomaterials*. 2009. Vol. 30. P. 5691–5700.

Поступила в редакцию 16.04.2014.

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)

Резюме. Статья посвящена новому научному направлению – разработке систем адресной доставки белков, нуклеиновых кислот и полисахаридов через тканевые барьеры. Внимание уделено природным нетоксичным соединениям, составляющим группу углеводных биополимеров. Описаны структура, физико-химические свойства и фармакологическая активность пектинов, альгинатов, хитозанов, каррагинанов и фукоиданов и микро- и наносистем на основе этих соединений. Приведены примеры использования наночастиц хитозана для энтерального введения гормонов, генов эритропоэтина и гепарина. Подчеркнута необходимость проведения токсикологических исследований новых лекарственных форм.

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