

КЕЙС «АЛГИНАТНЫЕ ИСТОРИИ»

Транспортировка лекарственных средств

Фармакология

Невозможно установить, когда человек впервые заметил, что определённые вещества в определённом состоянии и дозировке способны влиять на организм и помогать ему побеждать недуги. Именно тот день можно считать моментом **зарождением** науки о лекарствах, или фармакологии (от греч. *φάρμακον* — «лекарство», «яд» и *λόγος* — «слово», «учение»).

Такие «фармакологи» существовали практически во всех крупных цивилизациях, правда, далеко не все в своей деятельности пользовались методами, присущими современной науке. Знания получали также опытным путём или передавали из поколения в поколение. Правда, вместе со знаниями зачастую из века в век передавались и заблуждения, причинявшие вред больным.



Однако начиная с Нового времени достижения в медицине и химии позволили перевести производство лекарств на научную основу, положив начало целому комплексу практических наук, таких как фармация и, значительно позже, фармацевтика. Отличие двух отраслей заключается в следующем:

фармация изучает традиционные процессы производства лекарственных средств, основанные на ручном труде, а фармацевтика посвящена промышленному изготовлению.

В XXI веке, когда, казалось бы, доступно практически любое знание, способы производства лекарств продолжают оставаться известными лишь узкому кругу лиц. И дело не в заговоре, хотя высокая прибыльность лекарственного бизнеса заставляет многих фармакологов и фармацевтов не выпускать секреты за стены лабораторий и заводов. Производство современных лекарственных средств развивается так быстро и зашло настолько далеко, что непосвящённым зачастую невозможно объяснить, как получен тот или иной результат. Однако есть области современной фармацевтики, которые должны быть понятны любому человеку, считающему себя образованным.

Что должен знать каждый?

В фармацевтической промышленности большое внимание уделяется доставке лекарственных средств. Как стрела, лекарство должно найти и поразить свою цель. Но тело человека устроено непросто, и зачастую лекарство проходит большое количество преград. Такой преградой может выступать среда желудка, обладающая очень высокой кислотностью (pH). Так, например, одно из лекарственных средств — протеазы (ферменты, используемые для нормализации пищеварения) — не способно выдерживать низкие значения pH и не могло бы добраться до желудка, не имея защитной оболочки, которая позволяет сохранить фермент от разрушения. В поисках оптимальной оболочки для лекарств фармацевты проводят сотни экспериментов.



Все существующие лекарства, независимо от формы выпуска и назначения, должны соответствовать стандартам, описанным в фармакопее. Фармакопея (с др.-греч. *фармаков* — лекарство, *яд* и др.-греч. *ποιη* — делаю, изготавливаю) — сборник официальных документов (свод стандартов и положений), устанавливающих нормы качества лекарственного сырья — медицинских субстанций, вспомогательных веществ, диагностических и лекарственных средств и изготовленных из них препаратов.

Существует множество форм лекарственных средств. В зависимости от своего агрегатного состояния они могут производиться в разных видах: жидком (растворы, настои, отвары), мягком (мази, пасты, пластыри), твёрдом (таблетки, драже, порошки) и газообразном (ингаляционный наркоз и аэрозоли). В зависимости от способа введения лекарств в организм различают энтеральные и парентеральные лекарства. Энтеральные — формы, вводимые в организм через желудочно-кишечный тракт (через рот, прямую кишку). Парентеральные — формы, вводимые путём нанесения на кожу и слизистые оболочки организма; путём инъекций в сосудистое русло (артерию, вену), под кожу или в мышцу; путём ингаляций.

В большинстве случаев выбор формы в первую очередь зависит от назначения лекарственного средства. Одним из самых универсальных способов для переноса лекарств и биологического материала в организм человека является капсули-

рование. Капсулирование — это заключение мелких частиц вещества или его раствора в тонкую оболочку. Для этого очень маленькие порции водного раствора альгината с препаратом в виде капель помещаются в жидкость, после попадания в которую на поверхности капли происходит формирование оболочки микрокапсулы.

Немного о капсулировании

Как работает данный метод изготовления лекарств? Активное вещество, которым обычно выступает лекарственный препарат, заключается внутрь капсулирующего материала, состоящего из синтетического или природного полимера. На данный момент широко используются два вида капсул: твёрдые, где оболочка представляет своего рода «коробку» для лекарства, которую можно в любой момент разобрать, и мягкие, неотделимые от внутреннего активного вещества.

Несколько слов о полимерах. К природным полимерам относят целлюлозу, альгиновые кислоты и их соли, хитин. Синтетические полимеры отличаются большим разнообразием, и в промышленности применяются, как правило, самые дешёвые, лёгкие в создании и безопасные для организма человека виды.

Использование фармакологических полимерных материалов в качестве оболочки позволяет создавать капсулы для переноса не только веществ, но и микроорганизмов. Зачастую с помощью капсул микроорганизмы иммобилизуются (от лат. *immobilis* — неподвижный, процесс прикрепления микроорганизмов к нерастворимому носителю), что позволяет достаточно долго сохранять их в неизменном состоянии.



Твёрдые (слева) и мягкие (справа) капсулы



Все таблетки обычно проглатывают и запивают водой. Как же лекарство доставляется в определённый орган или клетку?

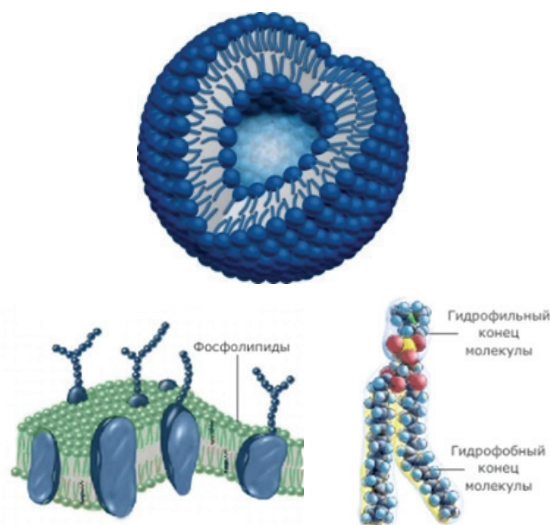
При традиционном введении препарата лекарство распределяется относительно равномерно и оказывает влияние и на органы, не нуждающиеся в лечении. В наше время ведущая тенденция в современной фармацевтике — направленный транспорт лекарственных средств. Впервые о точечной доставке лекарств заговорили ещё в XIX веке. Тогда немецкий бактериолог П. Эрлих предложил термин «волшебная пуля». Под «волшебной пулей» он подразумевал препарат, который будет находить и избирательно атаковать опухолевые клетки. В то время это казалось несбыточной мечтой, но современные технологии превратили её в реальность.

Одним из примеров направленного транспорта лекарственных средств может служить использование липосом.

Липосомы

Клеточная мембрана является серьёзной преградой для высокомолекулярных ферментов, поэтому ферментный дефицит в отдельных органах и тканях — это сложная задача. Помочь пройти эту преграду может использование липосом.

Липосомы (от греч. *lipos* — жир и *soma* — тело) — искусственно получаемые частицы, состоящие из одного или нескольких фосфолипидных бислоёв. Основная роль фосфолипидов в клетке — быть структурными компонентами мембран. По своему химическому строению они относятся к группе так называемых амфифильных соединений, молекулы которых состоят из двух частей, радикальным образом отличающихся своей реакцией на водное окружение. Фосфолипиды состоят из гидрофильной «головки» и гидрофобных «хвостов». Такое «раздвоение личности» придаёт фосфолипидным молекулам замечательное свойство самопроизвольно образовывать в воде мембраны, которые представляют собой двойной слой липидных молекул, обычно называемый липидным бислоем.



Стремление максимально ограничить контакт неполярных цепей липида с водой приводит к тому, что бислои при его достаточной протяжённости замыкаются сам на себя, образуя полые оболочечные структуры, получившие название «липосомные везикулы». Фосфолипиды входят в состав клеточных мембран, липосомы, пользуясь этим родством, легко могут проходить внутрь клетки.

В липосомах могут быть заключены самые разнообразные вещества: ферменты, гормоны, витамины, антибиотики и т. п.



Полезная информация:
dailytechinfo.org/medic/8010-uchenye-prevratili-virusy-v-sredstvo-dostavki-lekarstvennyh-preparatov.html

Также носителями лекарственных средств могут служить сами ферменты, пептиды и антитела.

Вирусы — не всегда плохо

Использование в качестве векторов вирусных частиц является одной из основ генной терапии — лечения не только инфекционных, но и наследственных заболеваний. Изменение структуры вируса позволит использовать вирус для выявления злокачественных опухолей или для доставки средств химиотерапии непосредственно в раковые клетки без воздействия на здоровые

клетки организма. Вирусы обеспечивают избирательность доставки в строго определённые ткани и клетки: это объясняется способностью вируса репродуцироваться в строго определённых клетках. Пока что результаты исследования не применяются вне лабораторий, но в дальнейшем такой способ может быть использован для создания индивидуальных вакцин, предназначенных для конкретного пациента.

В заключение стоит отметить, что существует огромное количество исследований по данной тематике. В недалёком будущем современные понятия о медицине могут полностью поменяться. Разработка новых методов доставки, способных найти единственную больную клетку и не воздействовать на здоровые, — это будущее медицины.

Почему для практики мы будем использовать альгинат натрия?

Использование альгинатов натрия и калия широко распространено в разных областях промышленности. При добавлении водных растворов альгината натрия в растворы, содержащие ионы кальция, происходит образование нерастворимого геля альгината кальция. Сферы применения этой относительно недорогой реакции разнообразны. Например, альгинаты применяются в пищевой промышленности как загуститель и стабилизатор, а ещё из них делают искусственную чёрную икру.

Как применяют альгинат в фармацевтике?

Альгинат натрия используют для создания микрокапсул для иммобилизации пробиотиков (бифидобактерий и лактобактерий), дрожжей и прочих микроорганизмов. Очень часто капсулируются вещества с неприятными запахом и вкусом. Например, ненавистный рыбий жир благодаря этой технологии может превращаться в капсулы с клубничным вкусом. Также альгинаты активно применяют в косметологии. В зависимости от соотношения концентрации Ca^{2+} и альгината можно получать гели различной плотности.



Применение альгинатов натрия, калия и кальция

Медицина

Для капсулирования лекарственных средств и биопрепаратов.

В стоматологии — в качестве слепочной массы — для изготовления оттиска челюсти.

В качестве антацидов (лекарственные препараты, предназначенные для лечения кислотозависимых заболеваний желудочно-кишечного тракта посредством нейтрализации соляной кислоты, входящей в состав желудочного сока).

Для борьбы с последствиями радиационного загрязнения (альгинаты обладают уникальной способностью связывать тяжёлые металлы (свинец, кадмий), токсичные и радиоактивные вещества (стронций, цезий, барий, радий, плутоний)).

Пищевая промышленность

Создание некоторых пищевых продуктов (например, искусственная красная икра на основе альгинатов).

В качестве пищевой добавки E401, применяется как загуститель и стабилизатор.

Косметология

Изготовление гелей, кремов и масок.

Теперь, когда мы узнали достаточно много об альгинатах и об их месте в нашей жизни, можно приступить к практической части. Нам предстоит не только создать капсулы из альгината, но и провести их испытание в организме «пациента».



Производство капсул

Как мы уже упоминали выше, получение капсул происходит при добавлении водного раствора альгината натрия в растворы, содержащие ионы Ca^{2+} (кальция). Для включения веществ в капсулы необходимо смешать их с водным раствором альгината натрия до капсулирования.

Для проведения опыта вам понадобятся необходимые реактивы:

Альгинат натрия	Крахмал
CaCl_2	Перманганат калия
Дистиллированная вода	Сахарный сироп
Красители	Перекись водорода
Раствор Люголя	Бриллиантовый зелёный

приборы и материалы (на одну группу):

Магнитная мешалка	Стакан на 50 мл
Пластиковые ванночки, 6 шт.	Палочка стеклянная
Пробирки с растворами, имеющими кислотный и щелочной pH	Сито
Стакан на 100 мл	Шприц на 10 мл
	Фильтровальная бумага

Подготовительные работы

Для начала необходимо приготовить водный раствор альгината натрия. Будьте внимательны: успех эксперимента зависит от того, насколько старательно вы замешаете раствор.

1

Приготовьте 100–200 мл 2%-ного раствора альгината натрия. Используйте пластиковые контейнеры для того, чтобы разделить получившийся раствор на несколько порций.



Взвесьте 2 г альгината натрия и вылейте в 100 мл горячей воды.



Особо тщательно перемешайте альгинат до получения однородной массы. Перемешивать можно стеклянной палочкой, шпателем или **блендером**.



Вы можете не придерживаться инструкции и приготовить более или менее концентрированный раствор (2,5%, 1,5%). Тогда ваши капсулы будут обладать несколько другими свойствами. Желательно, чтобы все группы сделали разные концентрации. И не забывайте, что концентрацию потом можно будет понизить, разбавив раствор водой.

2

Подготовьте 100 мл 3%-ного раствора CaCl_2 и разделите по трём пластиковым ванночкам. Это действие необходимо для получения в растворе ионов кальция и хлорид ионов.



Алгоритм действия с раствором хлорида кальция точно такой же. Размешивать придётся гораздо меньше.



Подготовьте новые контейнеры и фильтры для последующей работы.

Изготовление капсул

1

Получение окрашенных капсул (с использованием пищевого красителя)



Смешайте в одном из стаканов на 100 мл

25 мл 2%-ного раствора альгината натрия с красителем.

Получение капсул с бриллиантовым зелёным («зелёнка»)



Смешайте в стакане на 100 мл

25 мл 2%-ного раствора альгината натрия и несколько капель раствора бриллиантового зелёного

Получение капсул с крахмалом



Смешайте в стакане на 100 мл

25 мл 2%-ного раствора альгината натрия и 1 г крахмала.

Получение окрашенных капсул с KMnO_4 (перманганат калия / марганцовка)



Смешайте в стакане на 100 мл

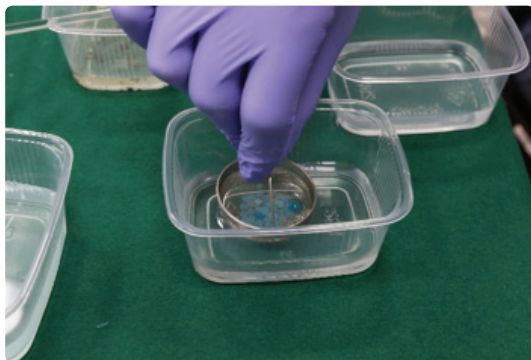
25 мл 2%-ного раствора альгината натрия и несколько кристаллов перманганата калия.

2

Внесите по каплям получившийся раствор в ванночку с 3%-процентным раствором CaCl_2 , стараясь не задевать уже готовые капсулы. Молекулы альгината соединяются с кальцием, и происходит так называемое капсулирование.



- 3 Поместите капсулы в раствор CaCl_2 на 10 минут.
- 4 Достаньте капсулы с помощью сита и промойте в воде.



- 5 Высушите капсулы на салфетке.



- 6 Поместите капсулы в герметичные пластиковые пробирки до следующего эксперимента.

Поздравляем! Если вы правильно выполнили все инструкции, у вас получились капсулы. Если нет, то, скорее всего, проблема в растворе альгината натрия, который вы готовили в самом начале. Можете ещё раз прочитать инструкцию о том, как делать раствор, соблюсти все дозировки и повторить эксперимент.

Если вы справились с заданием, можно перейти к следующему этапу и попробовать провести несколько исследований.

Определение защитных свойств капсул

	Изменение цвета капсул	Изменение pH капсул	Изменение цвета капсул №1	Изменение цвета капсул №2
1	10 капсул с крахмалом поместите в 25 мл раствора Люголя (или спиртовой раствор йода).	10 капсул с перманганатом калия поместить в 25 мл сахарного сиропа (глюкозы). Измените pH сиропа, используя кислоту или щёлочь. Используйте лакмусовые бумажки для определения pH.	10 капсул с перманганатом калия поместить в раствор перекиси водорода.	10 капсул с бриллиантовым зелёным поместить в раствор перекиси водорода.
2	Через некоторое время можно заметить изменение окраски капсул. Достаньте половину капсул через 10 минут, а вторую половину через 20 минут. <ul style="list-style-type: none"> Чем они отличаются? Как это можно объяснить? 	Оставить на 10 минут. После образования окрашенных капсул с помощью ситечка достать капсулы и просушить на салфетке. <ul style="list-style-type: none"> Есть ли различие между окрашиванием капсулы в зависимости от кислотности раствора? 	Наблюдайте изменения окрашивания капсул. Необходимо достать капсулы с помощью ситечка и просушить на салфетке. <ul style="list-style-type: none"> Что произошло? 	Наблюдайте изменения окрашивания капсул. Необходимо достать капсулы с помощью ситечка и просушить на салфетке. <ul style="list-style-type: none"> Что произошло?
3	Разрежьте капсулу. Есть ли изменения окрашивания модельного раствора внутри капсулы?			

Определение устойчивости капсул к различным условиям

Мы уже говорили о том, что разница в изготовлении капсул в фармакологии в первую очередь связана с необходимостью целевого использования лекарственных сред. Также вы уже знаете, что в желудке человека и в кишечнике разные показатели кислотности (pH). В заключительном исследовании вам предстоит взять две больших колбы с иконками «желудок» и «кишечник». В колбу «желудок» следует налить представленную в модуле кислоту, показатели которой соответствуют кислотности желудочных соков (pH 0,9–2).



Используйте перчатки и соблюдайте технику безопасности!

В колбу «кишечник» добавьте разбавленную щёлочь и сделайте раствор, идентичный по кислотности среде тонкого кишечника (pH 7,2–7,5). Далее используйте следующий алгоритм действий:

- Поместите по 10 окрашенных капсул в пробирки с различными pH.
- Записывайте изменения каждые 20 минут. Отметьте изменение формы, размера капсул, степень выхода красителя в раствор (применяются оценки «слабый», «насыщенный» и т.д.

Следующая задача позволит узнать, способны ли вы и ваша команда создать капсулу, которая сможет пройти кислотную среду желудка и попасть в кишечник? Для этого нужно экспериментировать с концентрацией раствора альгината натрия и хлористого кальция и активизировать различные защитные свойства, выявленные предыдущим исследованием.

Как выяснить, что капсула прошла испытание?

Время прохождения пищи через желудок составляет от 20 минут до 6 часов. Возьмём идеальные условия, когда человек проглотил капсулу натошак, запив её большим количеством воды. В таком случае необходимо, чтобы капсула продержалась в колбе «желудок», не растворившись в течение 20–30 минут.



Водородный показатель, pH (лат. pondus Hydrogenii — «вес водорода») — мера активности ионов водорода в растворе, количественно выражающая его кислотность.

pH измеряется в степенях числа 10. Концентрация ионов водорода в растворе с pH 1.0 в 10 раз выше, чем концентрация ионов водорода в растворе с pH 2.0. Чем выше концентрация ионов водорода, тем ниже pH.

- при pH > 7 раствор щелочной (основной)
- при pH < 7 раствор кислый, или кислотный

Для грубой оценки концентрации водородных ионов широко используются кислотно-основные индикаторы — органические вещества-красители, цвет которых зависит от pH среды. Набор таких индикаторов вы можете найти в модуле.



Кислотность в различных органах:

- в пищеводе pH составляет 6,0–7,0;
- в просвете тела желудка натошак 1,5–2,0;
- минимальная кислотность в желудке 8,3;
- максимальная кислотность в желудке 0,8–0,9;
- кислотность сока тонкой кишки 7,2–7,5;
- кислотность сока толстой кишки 8,5–9,0.