

КОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ БИОПОЛИМЕРОВ: СВОЙСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ СОЗДАНИИ ТРАНСДЕРМАЛЬНЫХ ФОРМ ВАКЦИН

М.Н. Киреев^{1*}, О.А. Волох¹, А.К. Никифоров¹

Резюме. В статье представлены результаты модельных экспериментов по конструированию прототипа трансдермального варианта чумной химической вакцины. Целью данной работы было показать принципиальную возможность создания композита на основе природных биополимеров и возможность использования его как депо антигенов химических вакцин на примере капсульного антигена чумного микроба.

Ключевые слова: природные биополимеры, капсульный антиген чумного микроба, вакцины.

NATURAL BIOPOLYMER-BASED COMPOSITES: PROPERTIES AND PROSPECTS OF UTILIZATION IN CONSTRUCTING TRANSDERMAL FORMULATION OF VACCINES

M.N. Kireev^{1*}, O.A. Volokh¹, A.K. Nikiforov¹

Abstract. Represented are the results of model experiments in the construction of chemical plague-vaccine transdermal variant prototype. Objective of the study is to demonstrate the possibility in principle to design natural biopolymer-based composite and feasibility of its application as depot antigens of chemical vaccines by the example of plague microbe capsular antigen.

Keywords: natural biopolymers, plague microbe capsular antigen, vaccines.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время все большее внимание уделяют альтернативным способам введения в организм пациента лечебных и профилактических препаратов, в том числе вакцин. Для ряда инфекций перспективным является применение трансдермального способа введения. При конструировании таких систем наиболее подходящими материалами, на наш взгляд, являются композиции из природных полимеров животного и растительного происхождения – хитозана и альгината натрия [1–3, 5, 6]. Они обладают рядом свойств, которые будут полезны для биотехнологов.

Ранее мы говорили о применении материалов из природных полисахаридных биополимеров в качестве контейнеров или матрикс-депо для компонентов химических вакцин – антигенов. В настоящее время накопилось достаточное количество фактических экспериментальных данных, позволяющих использовать полисахариды природного происхождения не только как контейнеры для антигенных компонентов медицинских иммунобиологических препаратов, но и как активные составляющие химических вакцин антигенного и клеточного уровня, позволяющие усилить иммунный ответ макроорганизма на введенные антигены и снизить возможные неблаго-

приятные последствия применения лекарственных препаратов [1–3, 5]. Особенно интересны перспективы применения биосовместимых и биodeградируемых природных полисахаридов при конструировании трансдермальных форм вакцинных и лекарственных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для конструирования прототипа вакцинного пластыря мы использовали различные варианты нетканого полотна, полученного из нановолокон хитозана путем электроформирования, а также композит, полученный из хитозана и альгината натрия. Мы использовали хитозан пищевой низкомолекулярный, произведенный в ЗАО «Биопрогресс», и готовую пластифицирующую смесь альгината и хитозана производства ЗАО «НПК «Космотерос». В качестве биологически активного компонента – капсульный антиген чумного микроба. Такой выбор не случаен: данный антиген хорошо изучен, это основной иммуноген возбудителя чумы, он является важнейшей составной частью большинства чумных профилактических и диагностических препаратов, и, что не менее важно, ранее мы показали, что он сохраняет свои биологические и иммунологические свойства в течение длительного периода даже при комнатной температуре [8, 9]. Такие харак-

теристики, на наш взгляд, позволяют говорить о возможности использования этого антигена для конструирования трансдермального варианта химической чумной вакцины.

Для модельного эксперимента антиген в сухом виде вносили в смесь полимеров и сополимеров, тщательно перемешивали, добавляли воду и полимеризовали в чашках Петри или раствором антигена пропитывали полосу нетканого полотна из хитозана. Получали композит, имеющий однородную структуру и пластичную консистенцию. Затем из полученного композита пробойником вырезали кусочки, равные по размеру и объему лунке агарового геля для реакции преципитации, ставили реакцию иммунодиффузии с противочумной сывороткой.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При конструировании трансдермальных форм компоненты химической вакцины – антигены могут быть адсорбированы или заключены в матриксы из природных биodeградируемых полисахаридов и в таком виде нанесены на кожу пациента. В последнее время два природных полисахарида, хитозан и альгинат натрия, получили широкое применение в фармацевтической промышленности благодаря своим уникальным свойствам.

Они имеют много общего:

- 1) оба полимера имеют природное происхождение (хитозан – животное, а альгинат – растительное);
- 2) оба полимера биodeградируемы, т.е. распадаются в организме человека до своих составляющих (мономеров) и выводятся естественным путем;
- 3) оба полимера в определенных условиях образуют разные морфологические формы.

Главное отличие состоит в том, что хитозан имеет положительный суммарный заряд, а альгинат – отрицательный. Эти свойства дают возможность фармацевтам-технологам использовать их в различных вариациях при конструировании лекарственных препаратов.

Растворимость хитозана в водных кислых средах позволяет перерабатывать его и создавать различные морфологические формы (гели, пленки, нетканый материал, микрокапсулы). На рисунке 1 показан нетканый материал из хитозанового волокна и зондовая микроскопия самого волокна. Такая модификация способствует варьированию его структуры и получению материалов с заданными свойствами, позволяющими пролонгировать действие биологически активных компонентов, обладающих иммуномодулирующим эффектом, повышенной антимикробной активностью или высокой термостабильностью при сохранении биodeградации.

В результате было показано, что капсульный антиген чумного микроба, включенный в композит из природных биополимеров, сохраняет свои иммунохимические свойства, что антиген постепенно выходит

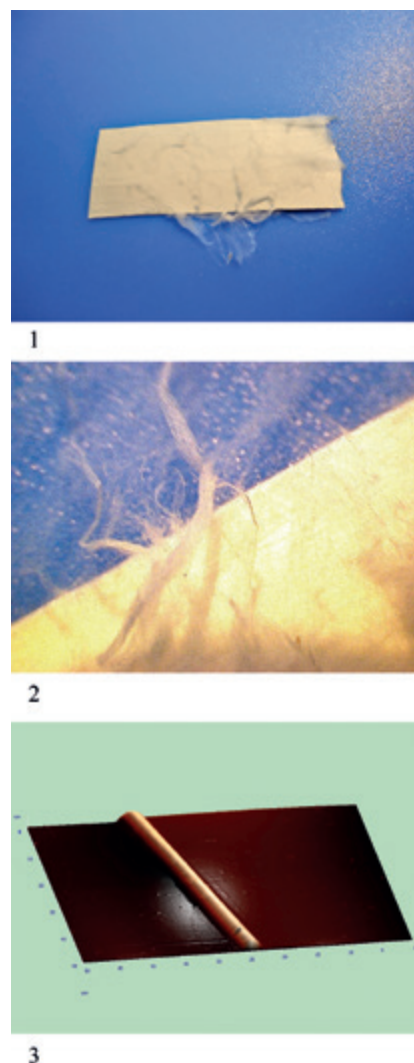


Рисунок 1. Нетканое полотно из волокон хитозана:

- 1 – вид в натуральную величину;
- 2 – вид при 100-кратном увеличении;
- 3 – волокно из хитозана (зондовая микроскопия)

из сконструированного композита и образует линию преципитации, соответствующую нативному, не включенному в подложку антигену. Это говорит о том, что связь капсульного антигена чумного микроба с компонентами композита из хитозана и альгината не ковалентная, а обусловлена адсорбционными взаимодействиями и скорость диффузии антигена выше, чем сила его сродства к композиту. Причем линии преципитата появлялись с некоторой задержкой относительно лунки со свободным антигеном (рисунок 2). При хранении полученного композита с антигеном в условиях, предотвращающих его высыхание, и при температуре 6 °С антиген сохранял свои иммунохимические свойства до 12 месяцев (срок наблюдения).

Ранее мы изучили иммуномоделирующее свойство хитозана на примере антигенов возбудителей двух опасных инфекций. опыты ставили на беспородных белых мышах. В качестве антигенов использовали капсульный антиген чумного микроба и протективный

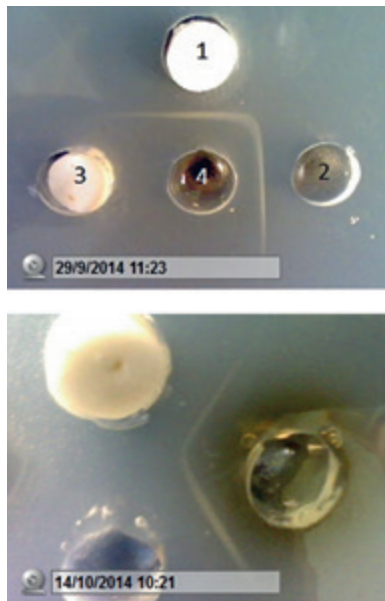


Рисунок 2. Реакция иммунодиффузии капсульного антигена чумного микроба и композита из хитозана и альгината натрия, содержащего этот антиген:

- 1 – композит с капсульным антигеном чумного микроба;
- 2 – чистый антиген;
- 3 – композит без антигена;
- 4 – антисыворотка против антигена

антигенный комплекс возбудителя туляремии. Было показано, что при одинаковой антигенной нагрузке титры специфических антител у животных, иммунизированных антигенами с хитозаном, были в 8–10 раз выше, чем у контрольной группы, иммунизированной только антигеном [10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трансдермальные вакцинные препараты перспективны тем, что их применение не требует присутствия высококвалифицированного медицинского персонала, отсутствует иглобоязнь у пациента, имеется возможность создания персонифицированных вакцин, с подбором индивидуальной дозы активных веществ вакцины – антигенов.

Необходимо отметить, что в слои подложки с активными компонентами – антигенами можно добавлять лекарственные вещества, стимулирующие иммунитет, повышающие проходимость антигенов через кожу и всасывание препаратов. При конструировании изделий медицинского назначения, основанных на принципах адсорбции антигенов, анатоксинов, ферментов с дальнейшим использованием биологической активности этих компонентов в макроорганизме (вакцины, лекарственные препараты), принципиально важно, что природные биополимеры при своей биоинертности практически не изменяют основные характеристики биологически активных веществ, но в то же время сами обладают бактерицидной активностью и адьювантным действием.

Таким образом, композиты из экологически чистых, биосовместимых и биodeградируемых природных полимерных материалов могут быть использованы при конструировании трансдермальных профилактических препаратов, оформленных в виде накожного пластыря.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю.З. Гендон, С.Г. Маркушин, Г.Г. Кривцов, И.И. Аكوпова. Хитозан как адьювант для инактивированных гриппозных вакцин, вводимых парентерально // Вопросы вирусологии. 2008. № 5. С. 14–19.
2. Ю.З. Гендон, Ю.М. Васильева, С.Г. Маркушин, И.И. Аكوпова, И.Б. Коптяева, Г.Г. Кривцов. Хитозан как адьювант для инактивированных вакцин против вирусов гриппа птиц // Журн. микробиол. 2009. № 2. С. 40–47.
3. Ю.М. Васильев. Адьюванты гриппозных вакцин – современное состояние // Журн. микробиол. 2010. № 1. С. 100–110.
4. Г.М. Стрелецкий, М.С. Краснов, Е.Ю. Рыбакова и др. Исследование влияния композиции на основе хитозанового геля и биорегулятора сыворотки крови на заживление гнойных ран у мышей // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2011. № 4. С. 211–214.
5. А.Б. Шиповская, В.И. Фомина, М.Н. Киреев, Е.С. Казакова, И.А. Касьян. Биологическая активность олигомеров хитозана // Известия Саратовского университета. Серия: Химия. Биология. Экология. 2008. Т. 8. Вып. 2. С. 46–49.
6. Избранные труды по комбустиологии / Под ред. Н.В. Островского. – Саратов: Научная книга, 2009. 275 с.
7. J.A. Mikszta, J.P. Dekker, N.G. Harvey et al. Micro-needle-based intradermal delivery of the anthrax recombinant protective antigen vaccine // Infect. Immun. 2006. V. 74. № 12. P. 6806–6810.
8. М.Н. Киреев, Т.М. Тараненко, Т.А. Храмченкова и др. Структурно-функциональные свойства препаратов капсульного антигена Ф1 в процессе хранения // Биотехнология. 2005. № 5. С. 41–43.
9. М.Н. Киреев, Т.М. Тараненко, Т.А. Храмченкова и др. Изучение стабильности антигенных компонентов чумной химической вакцины (Ф1+ОСА) в тестах на «ускоренное старение» и стресс-условия // Проблемы особо опасных инфекций. 2009. № 1(99). С. 70–74.
10. М.Н. Киреев, О.А. Волох, А.К. Никифоров. Современные биотехнологические подходы для создания профилактических препаратов // Общие угрозы – совместные действия. Ответ государств БРИКС на вызовы опасных инфекционных болезней: материалы международной конференции. – М. 2015. С. 193–195.