

О ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОКРЫТИЯ НА ПОВЕРХНОСТИ БИЛИАРНОГО СТЕНТА

А. Г. Бебуришвили, И. В. Запороцкова, Е. Г. Спиридонов, В. В. Мандриков, Р. А. Шинкарев

*Волгоградский медицинский научный центр,
Отдел хирургической гепатологии,
Волгоградский государственный университет*

На основе экспериментальных исследований предложена технология создания тонкопленочного покрытия полимерных стентов для протезирования желчевыводящих путей на основе полимерного вещества поливинилпирролидона (ПВП), насыщенного лекарственным препаратом доксорубицином. Созданное покрытие на опытной модели замедляет процесс кристаллизации желчи на поверхности стента-образца. Предложен и изучен вероятный механизм образования устойчивого адсорбционного комплекса «ПВП-доксорубин», обеспечивающий постепенное поступление лекарственного препарата доксорубина в организм и его пролонгированное действие. Анализированы различные варианты ориентации молекулы лекарственного вещества доксорубина относительно вещества-адсорбента ПВП при их взаимодействии, рассчитаны основные энергетические характеристики процессов адсорбции. Установлено, что энергетически более выгодным является вариант взаимодействия через оксигруппу молекулы доксорубина. Предложенная технология нанесения лекарственного тонкопленочного покрытия доступна для выполнения, подкреплена квантово-химическими расчетами и может быть принята за основу дальнейших исследований в этом направлении.

Ключевые слова: поливинилпирролидон, доксорубин, лекарственное покрытие, билиарный стент.

ON THE POSSIBILITY OF DEVELOPING A NEW DRUG-ELUTING BILIARY STENT

**A. G. Beburishvili, I. V. Zaporotskova, E. G. Spiridonov,
V. V. Mandrikov, R. A. Shinkarev**

On the basis of experimental studies we proposed a technology of developing thin-film coated polymer stents for bile duct replacement based on a polymeric substance of polyvinylpyrrolidone (PVP), saturated with doxorubicin. The developed thin-film coating of an experimental model slows down the bile crystallization process on the surface of a stent sample. We proposed and studied the potential mechanism of formation of a stable PVP-doxorubicin adsorption complex for gradual delivery of doxorubicin into the body and its prolonged action. We analyzed the different types of molecule orientation of doxorubicin in relation to PVP adsorbent (during their interaction), to calculate the main energy characteristics of adsorption processes. We found that the interaction through an oxy group of the doxorubicin molecule is energetically a more favorable option. The proposed technology of applying thin-film drug coating can be introduced as quantum chemical calculations were made and it can become a basis for further research.

Key words: polyvinyl pyrrolidone, doxorubicin, drug-eluting biliary stent.

Почти полвека назад радиолог из Орегонского университета Чарльз Доттер предложил новый способ помощи больным, страдающим закупоркой артерий, так называемый метод стентирования — расширения суженных сосудов с помощью металлического каркаса — стента. В настоящее время существуют около четырехсот типов сосудистых стентов, отличающихся друг от друга составом материала, из которого они изготовлены, длиной, диаметром, количеством отверстий, покрытием поверхности, контактирующей с физиологическими жидкостями, системой доставки в сосуды. В сочетании с медикаментозной терапией современные стенты применяются в различных клинических ситуациях и позволяют быстро, эффективно и безопасно устранять основные симптомы заболевания [1].

Одним из вариантов стентирования желчевыводящих путей является стентирование пластиковым стентом, изготовленного из полиэтилена, ПВХ [2, 3, 4]. В основном билиарные стенты применяются для купирования механической желтухи, дренирования после операции или травмы, при протезировании стриктур различного генеза. К сожалению, стенты из пластика обла-

дают низкой «жизнестойкостью» и достаточно быстро покрываются солями и теряют свою функцию [5]. Результаты применения в клинической практике существующих разновидностей пластиковых билиарных стентов не могут считаться удовлетворительными.

Для уменьшения негативных эффектов на поверхность стента может быть нанесено лекарственное покрытие, которое позволит обеспечить высокую концентрацию препарата на поверхности стента и его пролонгированное поступление в организм, предупредит отложение солей и увеличит срок работы стента.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Поиск новых несложных и недорогих способов покрытия поверхности полимерных стентов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Лекарственный препарат(ы) можно наносить несколькими способами: а) в виде покрытия, нанесенного на внешнюю поверхность билиарного стента; б) в виде покрытия, нанесенного на внутреннюю (про-

светную) поверхность билиарного стента; с) в виде покрытия на все или части обеих поверхностей; d) в виде включения в полимеры, которые входят в состав материала билиарного стента.

Несмотря на то, что для некоторых средств не требуется полимерных носителей для прикрепления лекарственного препарата к поверхности билиарного стента, некоторые полимерные носители особенно подходят для применения в данном варианте воплощения. Особый интерес представляют такие полимерные носители, как полиуретаны, акриловые и метакриловые сополимеры (например, поли(этилен-со-акриловая кислота), полимеры, производные целлюлозы (например, нитроцеллюлоза, ацетобутират целлюлозы, ацетопропионат целлюлозы), сополимеры акрилата и метакрилата (например, поли(этилен-со-винилацетат)), а также их смеси.

Согласно основополагающим исследованиям К. Juniper (1954—1957) по изучению микроскопической элементной картины желчи установлено, что основными структурами, играющими определяющую роль в процессе кристаллизации, являются кристаллы холестерина (КХ), карбоната кальция (КК), билирубината кальция (БК) либо их комбинация.

Изучение желчи методом поляризационной микроскопии (ПМ) позволило доказать, что даже в нормальной желчи можно наблюдать процессы кристаллизации. Причем имеет место стадийность этого процесса в следующих интервалах: 60—70, 180—200 мин и 24 ч. Установлено, что в указанные сроки мицеллярный раствор нормальной желчи переходит в жидкокристаллическую фазу. Гомогенный мицеллярный раствор представляет равномерное темное поле. Кристаллы образуют в поляризованном свете оптические фигуры — текстуры, которые имеют различную форму, зависящую от фазы и типа кристалла [10].

Нами предложена технология создания тонкопленочного покрытия билиарного стента на основе известного антиоксидантного полимерного вещества N-винилпирролидона — мономера поливинилпирролидона (ПВП) [6, 7, 8], насыщенного лекарственным препаратом доксорубицином.

В виде образца *билиарного стента* был взят полимерный образец из полиуретана в виде гибкого цилиндра (рис. 1) длиной 7 см и внутренним диаметром 7 F.



Рис. 1. Внешний вид билиарного стента

Для создания лекарственного покрытия на поверхности билиарного стента использован водный раствор лекарственного препарата доксорубин и ПВП.

Вследствие широкого диапазона и весьма необычного сочетания практически ценных свойств ПВП привлекает все большее внимание. Замечательной особенностью поливинилпирролидона является отсутствие токсичности, растворимость в большинстве органических растворителей и в воде, хорошие адгезионные свойства, высокая склонность к комплексообразованию. В этом отношении поливинилпирролидон занимает исключительное место среди других высокомолекулярных соединений.

ПВП представляет собой смесь аморфных линейных полимеров с варьирующей степенью вязкости. Поливинилпирролидон — желто-белый или белый гигроскопичный порошок со слабым специфическим запахом, температура размягчения 140—160 °С. Растворяется в воде, спирте, концентрированных и разбавленных минеральных кислотах, ароматических углеводородах (рис. 2).

Структурная формула поливинилпирролидона (C_6H_9NO)n:

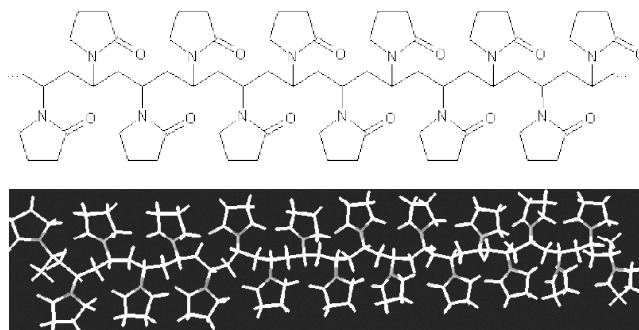


Рис. 2. Схемы макромолекулы поливинилпирролидона

ПВП был выбран в качестве вещества-носителя не случайно. Благодаря своей электронной природе функциональных групп (фрагментов макромолекулы), ПВП обладает рядом уникальных особенностей, которые нередко находят применение в промышленности и медицине.

Интересным свойством ПВП, имеющим практическое значение, является его высокая адсорбирующая способность и склонность к комплексообразованию. ПВП связывает многие вещества (низкомолекулярные соединения), в том числе лекарственные препараты, красители. Это свойство используется в медицинской практике, с одной стороны, для продления действия лекарств, с другой — для выведения болезнетворных токсинов из организма человека и животных [6]. Уникальными особенностями также обладает влияние ПВП на организм человека. ПВП индифферентен для организма, не поддается расщеплению ферментами и выводится в неизмененном виде почками [7]. ПВП образует комплексы с различными веществами белкового происхождения, в том числе токсинами, продуктами распада тканей, продуктами бактериального происхождения, они способ-

ствуют проведению через почечный барьер соединения, которые без контакта с ПВП не проходят через него. При образовании комплекса отрицательное действие токсинов нейтрализуется практически полностью. Нормализуется проницаемость клеточных мембран, результатом этого является восстановление электролитного состава, происходит нормализация функции печени и почек, восстанавливаются ферментные процессы, синтез белка и так далее [8].

Доксорубин (брутто-формула $C_{27}H_{29}NO_{11}$) (рис. 3) представляет собой кристаллический или аморфный порошок оранжево-красного или красного цвета (рис. 4). Хорошо растворим в воде, растворим в водных растворах кислот, ацетоне, бутаноле, хлороформе. Доксорубин является химиотерапевтическим препаратом для лечения некоторых видов рака [9].

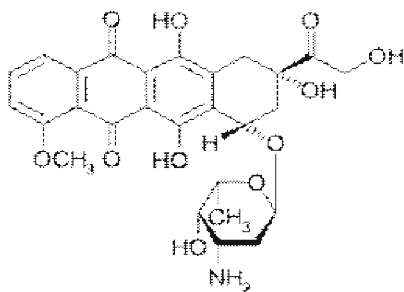


Рис. 3. Структурная формула доксорубина



Рис. 4. Лекарственный препарат «Доксорубин»

Процесс нанесения лекарственного покрытия на поверхность полиуретанового стента проводился в несколько этапов. Сначала поверхность билиарного стента

обезжиривалась путем погружения в ацетон на 30 мин. Следующим этапом работы было приготовление водного раствора ПВП, путем экспериментального подбора была определена оптимальная концентрация составных веществ: ПВП — 50 %, вода — 50 %. Для полного растворения поливинилпирролидона такой концентрации в воде потребовалось 24 ч. Полученный раствор имел желтую окраску и обладал достаточной вязкостью, позволяющей ему хорошо закрепляться на поверхности полиуретанового образца. Отдельно был приготовлен еще один раствор с такой же концентрацией поливинилпирролидона (30 г ПВП и 30 г воды), но уже с добавлением лекарственного препарата доксорубина в количестве 5 мг. После тщательного перемешивания и полного растворения веществ в воде образовался раствор ярко-оранжевого цвета.



Рис. 5. На фотографии слева — водный раствор ПВП, справа — водный раствор комплекса «ПВП+доксорубин»

Нанесение покрытия производилось химическим способом — выдерживанием стента в одном из приготовленных растворов. Время выдержки в растворе составляло 24 ч.

Для просушки образца была изготовлена специальная установка (рис. 6), состоящая из двух одновременно вращающихся стержней. Стент с нанесенным покрытием устанавливался между ними и вращался вдоль

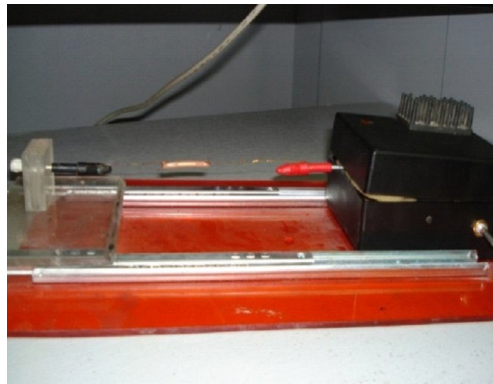


Рис. 6. Установка для равномерной просушки стента (вид сверху и сбоку)

своей оси, что обеспечивало равномерное высушивание покрытия без образования потеков раствора.

После полного высушивания образцы с нанесенным покрытием были исследованы на оптическом микроскопе МИМ-8 при увеличении $\times 100$. Анализ снимков (рис. 7, 8) позволил определить толщину созданного покрытия, которая оказалась равной 0,03 мм.

Далее была проведена экспериментальная оценка возможности снижения интенсивности процессов кристаллизации желчи на поверхности билиарных стентов за счет использования лекарственного покрытия «ПВП+доксорубицин». Стенты с покрытием и без помещали в желчь на 24 ч и после извлечения сразу же исследовали на микроскопе МикМед-5.

Для доказательства эффективности создания комплексов «ПВП+доксорубицин» и изучения механизмов процессов взаимодействия ПВП с лекарственным препаратом доксорубицином нами были выполнены расчеты процесса взаимодействия в рамках квантово-химического метода DFT (теория функционала плотности) с применением функционала B3LYP [11]. Для расчетов использован программный пакет Gaussian.

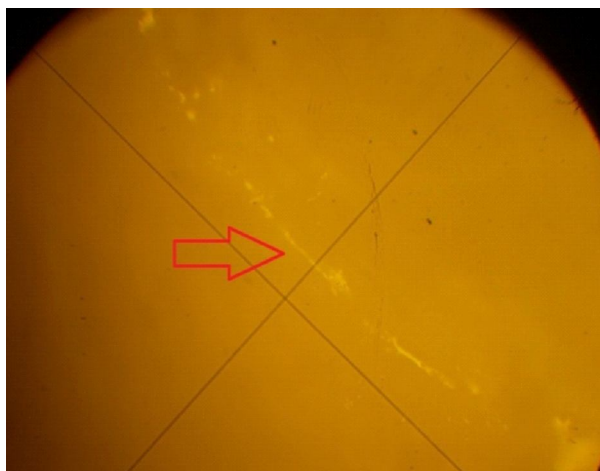


Рис. 7. Фрагмент полимерного стента с лекарственным покрытием состава: 50%-й раствор ПВП

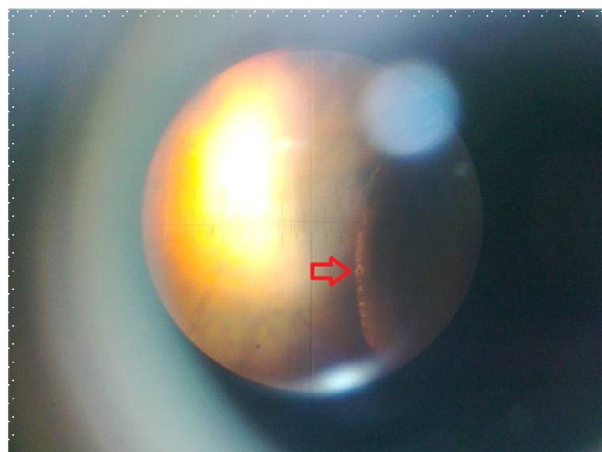


Рис. 8. Фрагмент полимерного стента с комбинированным покрытием 50%-м раствором ПВП и 5 мг доксорубицина

Для описания полимерной системы ПВП был смоделирован молекулярный кластер, состоящий из трех мономеров N-винилпирролидона C_5H_9NO . Оптимизированные молекулы доксорубицина и фрагмент поливинилпирролидона приведены на рис. 9.

Выполненные расчеты позволили определить особенности геометрического строения выбранных систем, в том числе межатомное расстояние, валентные и торсионные углы.

Как известно, важным свойством ПВП является способность образовывать устойчивые комплексы с фенольными веществами растительного происхождения за счет образования водородной связи между функциональной группой поливинилпирролидона $>N-C=O$ и оксигруппой молекулы полифенола. При детальном рассмотрении модели молекулы доксорубицина в ее структуре можно обнаружить 5 оксигрупп. В связи с этим в качестве возможных активных адсорбционных центров были предложены атомы водорода, принадлежащие этим группам (рис. 10). Были рассмотрены несколько вариантов расположения молекул друг относительно друга.

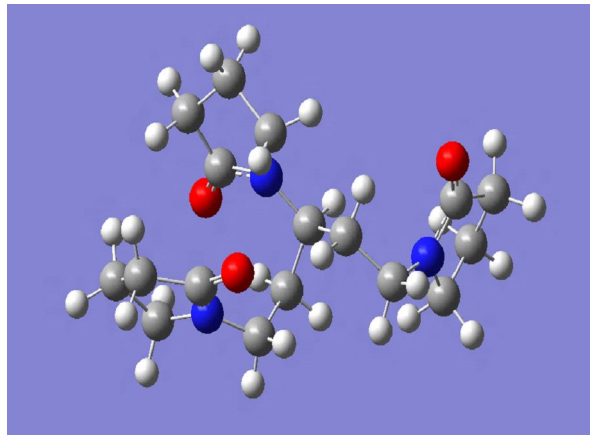
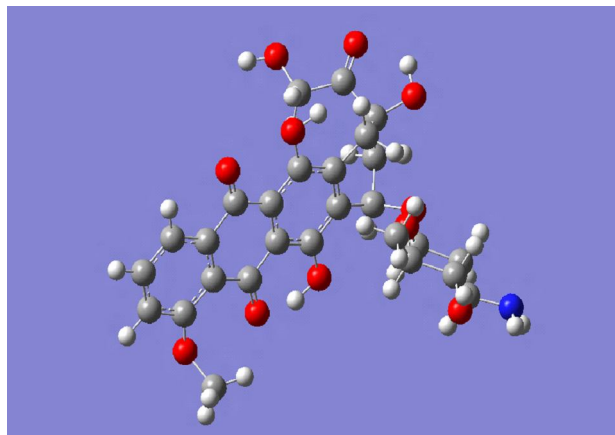


Рис. 9. Модели молекулы доксорубицина (слева) и фрагмента полимера ПВП, состоящего из трех мономерных единиц (справа)

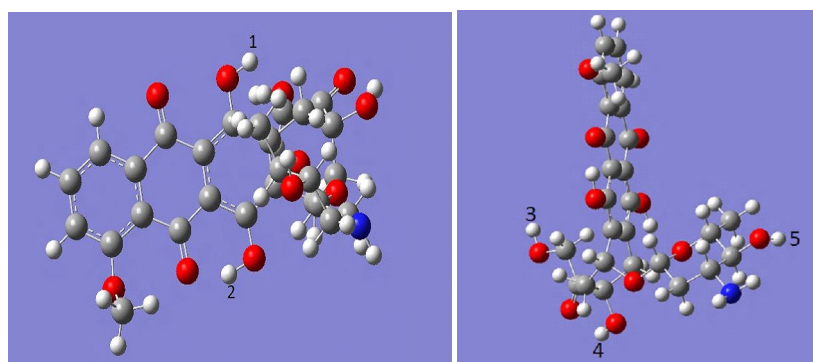


Рис. 10. Возможные адсорбционные центры молекулы доксорубина

На рис. 11 приведены 5 различных вариантов ориентации молекулы доксорубина к фрагменту ПВП, взаимодействие осуществляется через активный центр доксорубина —

атом водорода оксигруппы: а) адсорбционный центр 1; б) адсорбционный центр 2; в) адсорбционный центр 3; г) адсорбционный центр 4; д) адсорбционный центр 5.

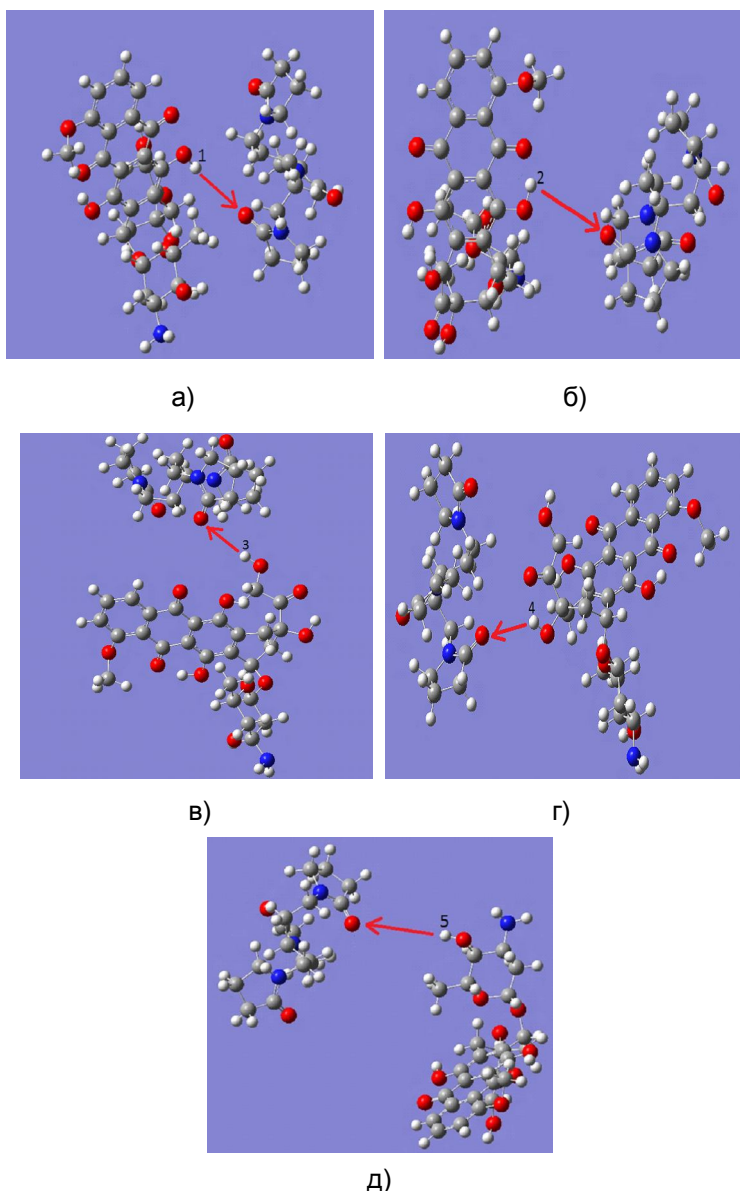


Рис. 11. Процесс приближения молекулы доксорубина к атому кислорода молекулы ПВП; взаимодействие осуществляется через активный центр доксорубина — атом водорода оксигруппы: а) адсорбционный центр 1; б) адсорбционный центр 2; в) адсорбционный центр 3; г) адсорбционный центр 4; д) адсорбционный центр 5

Процесс адсорбционного взаимодействия моделировался пошаговым приближением (с шагом 0,1 Å) молекулы доксорубина к фрагменту макромолекулы поливинилпирролидона. Расстояние изменялось от 5 Å до 1 Å. Энергия адсорбции вычислялась как разность полных энергий невзаимодействующих молекул адсорбента (поливинилпирролидона) плюс молекулы адсорбата (доксорубина) и их адсорбционного комплекса:

$$E_{\text{адс}} = E_{\text{ад.к}} - (E_{\text{пвп}} + E_{\text{докс}})$$

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Процесс кристаллизации на чистом без покрытия стенте начинался через 4—5 мин после извлечения

образца из желчи. Полученные фотографии образца представлены на рис. 12.

При исследовании процессов кристаллизации желчи на поверхности стента с покрытием на основе раствора-комплекса «ПВП+доксорубин» выявлено, что время начала процесса кристаллизации увеличилось в среднем 4,5 раза и начиналась она через 18—20 мин после извлечения образца из желчи. Однако полученные кристаллы в этом случае существенно отличались по форме (рис. 13).

По результатам расчетов были построены профили поверхности потенциальной энергии взаимодействия молекулы доксорубина с поверхностью макромолекулы поливинилпирролидона (рис. 14).

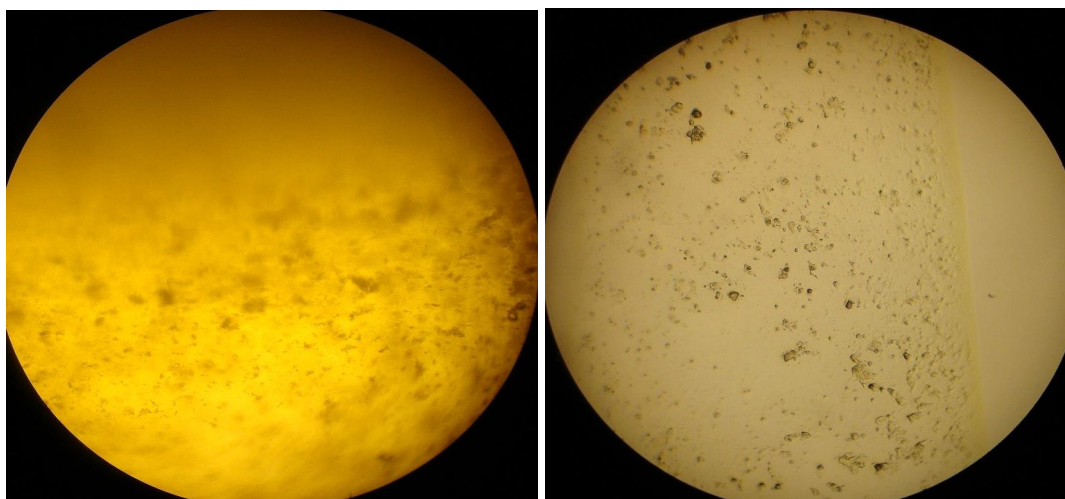


Рис. 12. Фрагмент стента до начала процесса кристаллизации желчи на его поверхности (слева) и фрагмент стента спустя 5 мин после начала исследования (справа)

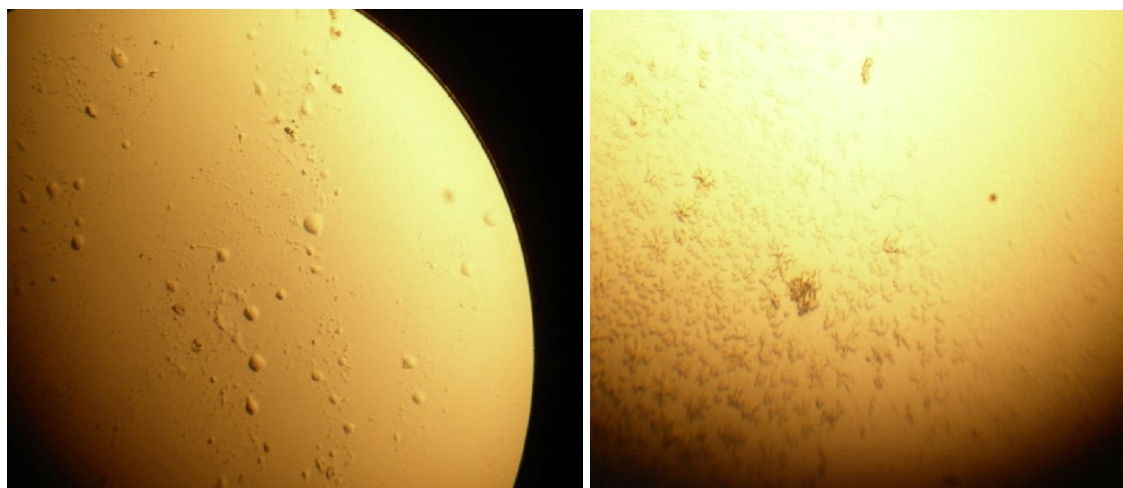


Рис. 13. Фрагменты стента с лекарственным покрытием на основе ПВП и доксорубина до начала кристаллизации (слева) и спустя 20 мин от начала эксперимента (справа)

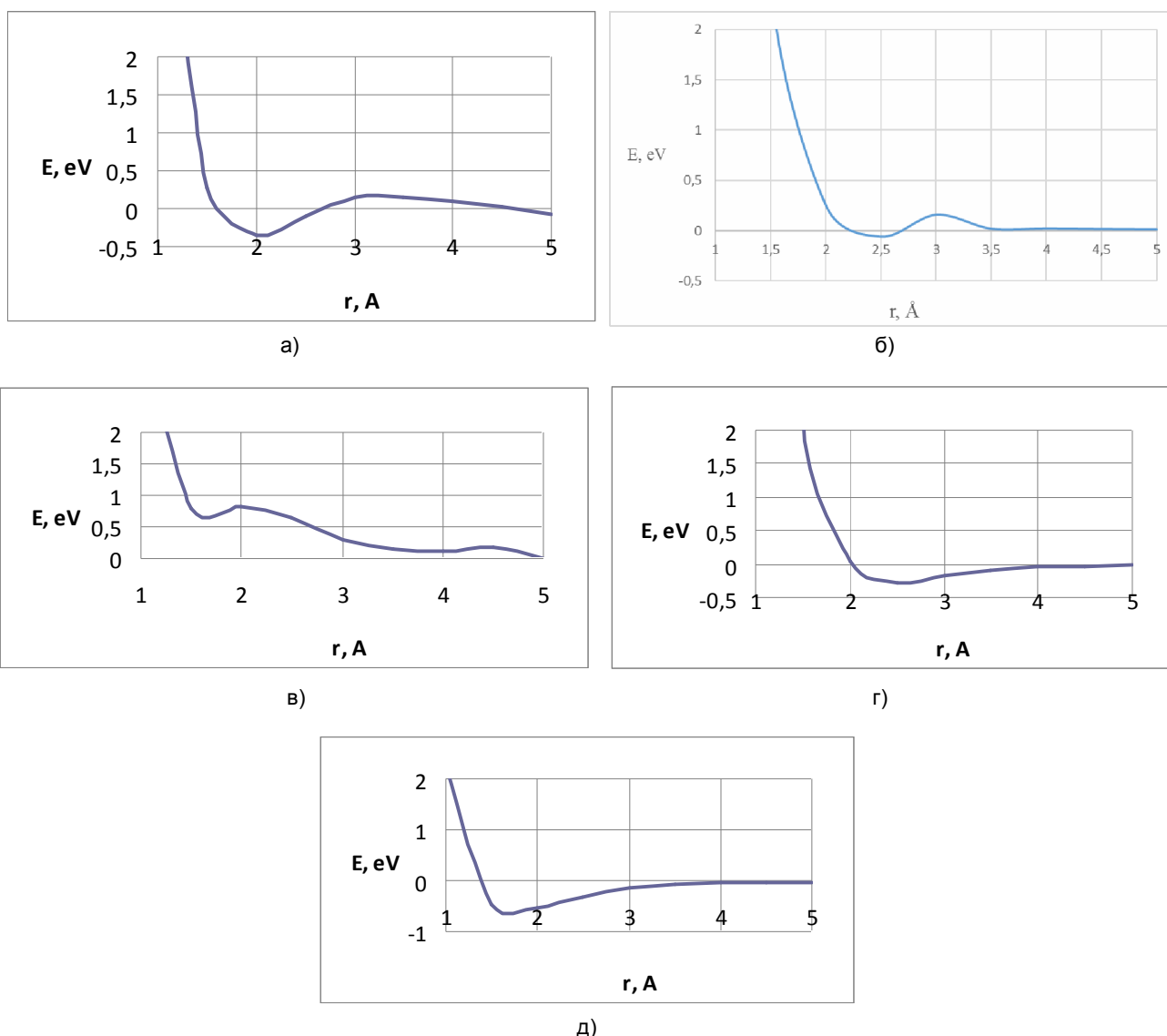


Рис. 14. Зависимость полной энергии взаимодействия молекул доксорубина и поливинилпирролидона от расстояния между атомами соединения: а) вариант 1; б) вариант 2; в) вариант 3; г) вариант 4; д) вариант 5.

Анализ графиков показал, что в вариантах 1, 4, 5 наблюдаются минимумы энергии, то есть процесс адсорбции в данных случаях реализуется. Варианты 2, 3 соответствуют нестабильному состоянию системы — на кривых отсутствуют четкие минимумы.

Основные характеристики процесса взаимодействия ПВП и доксорубина представлены в табл.

Оптимальные расстояния адсорбции, энергии адсорбции молекулы доксорубина на поверхности поливинилпирролидона для различных вариантов

Вариант	$R_{\text{адс}}, \text{\AA}$	$E_{\text{адс}}, \text{eV}$
1	2,1	-0,34
2	—	—
3	—	—
4	2,6	-0,28
5	1,7	-0,57

Энергетически более выгодным является вариант взаимодействия 5. Энергия адсорбции в этом случае $E_{\text{адс}} = -0,57 \text{ эВ}$, что соответствует теоретическим значениям энергии водородной связи. В данном случае образуется наиболее устойчивая структура.

Таким образом, на основе проведенных теоретических и экспериментальных исследований и выполненных квантово-химических расчетов нами были получены следующие результаты:

1. Предложена технология создания лекарственного покрытия на поверхности полимерного медицинского стента:

а) подобрана оптимальная концентрация ПВП, воды и лекарственного препарата доксорубина для получения наиболее устойчивого покрытия;

б) выявлены оптимальные условия нанесения покрытия на поверхность полиуретановых образцов;

в) создано устройство для равномерной просушки покрытия на поверхности стента;

г) проверена эффективность покрытия на воздействие желчи в статических условиях;

д) проверена устойчивость покрытия;

е) доказано, что получившееся покрытие замедляет процесс кристаллизации желчи на поверхности стента-образца.

2. Предложен и изучен вероятный механизм образования устойчивого адсорбционного комплекса «ПВП-доксорубин», обеспечивающий создание эффективного лекарственного покрытия, благодаря которому будет возможно пролонгированное действие лекарственного препарата на организм.

3. Анализированы различные варианты ориентации молекулы лекарственного вещества доксорубина относительно вещества-адсорбента ПВП при их взаимодействии, рассчитаны основные энергетические характеристики процессов адсорбции. Установлено, что энергетически более выгодным является вариант взаимодействия через оксигруппу молекулы доксорубина.

4. Доказано, что при взаимодействии реализуется физическая адсорбция, что обеспечивает возможность постепенного поступления лекарственного препарата доксорубина в организм при его десорбции из ПВП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенная технология нанесения лекарственного тонкопленочного покрытия полимерных стентов для протезирования желчевыводящих путей доступна для выполнения, подкреплена квантово-химическими расчетами и может быть принята за основу дальнейших исследований в этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алесян Б. Г., Стаферов А. В., Леонтьев Д. А., Зинин В. Н. // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН Сердечно-сосудистые заболевания. — 2010. — Т. 11, № 5. — С. 59—69.
2. Бебуришвили А. Г., Зюбина Е. Н., Мандриков В. В. и др. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2010. — № 3. — С. 39—42.
3. Бебуришвили А. Г., Зюбина Е. Н., Панин С. И. и др. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2013. — № 1 (45). — С. 51—53.
4. Варианты билиарных стентов // URL: <http://amberlife.com.ua>
5. Вмешательства на желчевыводящих путях // URL: <http://www.rusmedserv.com/radiology/biliary-interventions/>
6. Сидельковская Ф. П. Химия N-винилпирролидона и его полимеров. — М.: Наука, 1970. — 160 стр.
7. N-винилпирролидон // Большая энциклопедия нефти и газа // URL: <http://www.ngpedia.ru/id658762p1.html>
8. Поливинилпирролидон // Фарммедхим // URL: <http://fmchem.ru/catalog/115>
9. Доксорубин // Реестр лекарственных средств // <http://www.reles.ru/cat/drugs/Doxorubicin/>
10. Быков А. В. Современные подходы к диагностике и к лечению желчнокаменной болезни: дис. ... д. м. н. — Волгоград, 1992. — 271 с.
11. Koch W. A., Holthausen M. // Weinheim: Wiley-VCH. — 2002. — P. 19—28.

Контактная информация

Спиридонов Евгений Геннадиевич — к. м. н., асс. кафедры факультетской хирургии с курсом эндоскопии и эндоскопической хирургии ФУВ и с курсом сердечно-сосудистой хирургии ФУВ, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: seg-s@mail.ru