

©Коллектив авторов

ПОВЫШЕНИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЁЗНОГО ДЕЙСТВИЯ РИФАМПИЦИНА ПРИ ВСТРАИВАНИИ В ФОСФОЛИПИДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ С ОЛЕАТОМ НАТРИЯ

М.А. Санжаков¹, О.М. Ипатов¹, Т.И. Торховская^{1,2*}, Е.Г. Тихонова^{1,3},
Н.В. Медведева¹, Т.С. Захарова¹, В.Н. Прозоровский¹

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича (ИБМХ),
119221 Москва, ул. Погодинская, 10; *эл. почта: torti@mail.ru

²Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины,
119221, Москва, ул. М. Пироговская, 1а

³ООО “ИБМХ-ЭкоБиоФарм”, Москва

В ИБМХ ранее была разработана лекарственная композиция противотуберкулёзного препарата рифампицина, встроенного в наночастицы с диаметром 20-30 нм из соевого фосфатидилхолина с добавлением олеата натрия. Она проявляла большую биодоступность по сравнению со свободным лекарством. В данной работе показана более высокая противотуберкулёзная активность этой композиции. В экспериментах на клетках *M. tuberculosis* H37Rv рифампицин в наночастицах более активно тормозил рост клеток по сравнению со свободным лекарством, что проявилось во вдвое меньшей величине минимальной ингибирующей концентрации – 0,5 мкг/мл по сравнению с 1 мкг/мл для свободного рифампицина. В экспериментах на мышах с туберкулёзом, вызванным штаммом *M. tuberculosis* Erdman, после 6 недель перорального введения рифампицина в наночастицах (по профилактической схеме, начиная с 3-го дня после заражения) величина КОЕ в лёгких была в 22 раза ниже, чем после свободного рифампицина (1,7 ед. по сравнению с 37,4 ед.). Величина ЛД₅₀ на мышах была вдвое выше для рифампицина в наноконструкции – как результат защитного действия фосфолипидов наночастиц. В связи с использованием рифампицина, как неотъемлемого компонента современных схем противотуберкулёзной терапии, полученные данные указывают на перспективность разработанной лекарственной композиции.

Ключевые слова: фосфолипидные наночастицы; рифампицин; олеат; *M. tuberculosis*; рост клеток; противотуберкулёзное действие; КОЕ

DOI: 10.18097/PBMC20186406505

ВВЕДЕНИЕ

Развитие современных нанотехнологий инициировало в последнее десятилетие новое направление биофармацевтических исследований – оптимизацию свойств лекарственных соединений путём их включения в наночастицы. Это наиболее актуально для лекарств с выраженными побочными эффектами и низкой биодоступностью, особенно при использовании длительных терапевтических схем [1, 2]. Одним из путей получения наноконструкции является включение лекарства в наночастицы из биосовместимых материалов, в качестве которых используют полимеры или липиды, чаще всего фосфолипиды с различными добавками. Большинство таких работ относится к противоопухолевым препаратам. Однако внимание уделяется и другим широко востребованным лекарствам, в частности, средствам для лечения туберкулёза [3], что обусловлено резким возрастанием частоты этого заболевания, являющегося сейчас основной причиной смертности среди инфекционных болезней [4].

Лечение этого заболевания, несмотря на разработки новых препаратов, пока ведётся в основном по традиционным схемам, включающим комбинации трёх или четырёх основных препаратов первого ряда, обязательным компонентом которых является рифампицин [5]. Этот полусинтетический антибиотик, наряду с высокой эффективностью, имеет ряд существенных недостатков, к числу которых

относятся: (i) выраженные побочные действия, обуславливающие плохую переносимость лекарства у многих пациентов; (ii) очень низкая растворимость в воде, что не позволяет использовать оптимально высокие дозы препарата, (iii) низкая, вариабельная биодоступность и неустойчивость в кислой среде желудка. В ряде работ описаны композиции с включением рифампицина в различные транспортные системы (чаще всего на основе фосфолипидных липосом) [6, 7]. Для приготовления липосом обычно использовали фосфатидилхолин или (в первых работах) соевый “лецитин” [8], в котором этот фосфолипид является преобладающим. Иногда использовали гидрогенизированный соевый фосфатидилхолин [9]. В большинстве работ также добавляли холестерин в разных соотношениях с фосфатидилхолином [9-15]. Отрицательно заряженные липосомы, образованные фосфатидилсеринном без или с добавлением дицетилфосфата, лучше захватывались макрофагами, чем нейтральные, полученные из фосфатидилхолина [16]. Поэтому в ряде работ при приготовлении липосом для включения рифампицина к фосфатидилхолину (в смеси с холестерином) добавляли кардиолипин [8, 17], который, правда, снижал связывание лекарства [17]. Добавление олеиновой кислоты способствовало повышенному захвату клетками A549 включённого в липосомы рифампицина [15]. Включение рифампицина в катионные липосомы, полученные с использованием диоктадецилдиметиламмоний

* - адресат для переписки

бромид (DODAB), повышало активность рифампицина *in vitro* против клеток *M. tuberculosis* [18]. Есть данные и о включении рифампицина в твёрдые липидные наночастицы [19]. В большинстве упомянутых работ размер частиц или не рассматривался, или был выше 200-300 нм.

В то же время, исходя из данных о значимости не только состава и свойств поверхности транспортных частиц, но также их размера, обратно коррелирующего с эффективностью включённого в них лекарства [1, 2], можно ожидать большей эффективности этого противотуберкулёзного препарата при включении его в ультрамалые наночастицы, с максимально возможным снижением их диаметра. Такая транспортная система на основе соевого фосфатидилхолина с включением ряда лекарств в наночастицы с диаметром менее 30 нм была разработана нами ранее [20]. В то же время загрузка рифампицина в наночастицы оказалась ниже, чем для других лекарств, и для её повышения в систему был добавлен олеат натрия, что позволило более, чем вдвое, повысить процент включения по сравнению с наночастицами на основе только фосфатидилхолина [21, 22]. Были выбраны оптимальные для включения рифампицина количества олеата и охарактеризованы получаемые наночастицы. При пероральном введении крысам рифампицина в составе такой композиции его биодоступность оказалась почти на порядок выше, чем для свободного лекарства [21].

Целью данной работы было изучение противотуберкулёзной активности этой ранее разработанной композиции как в условиях *in vitro* – на клетках *M. tuberculosis H37Rv*, так и *in vivo* – на мышах с моделью туберкулёза, вызванного штаммом *M. tuberculosis Erdman*, с использованием свободного рифампицина в качестве препарата сравнения. Для оценки общей лекарственной эффективности композиции проводили сравнительное определение степени токсического действия (ЛД₅₀) рифампицина в наночастицах и свободного лекарства, путём токсикологического исследования при внутрижелудочном введении мышам

МЕТОДИКА

В работе использовали соевый фосфолипид Lipoid S100 (“LipoidGmbH”, Германия) с содержанием фосфатидилхолина 94-96%, моногидрат мальтозы (“Merck”, Германия), натриевую соль олеиновой кислоты (“Aldrich”, Германия) и субстанцию рифампицина (“SandozPvtLtd”, Индия). Получение композиции рифампицина, встроенного в фосфолипидно-олеатные наночастицы, осуществляли как описано ранее [21]. Эмульсию фосфатидилхолина (25 мг/мл) в 10% растворе мальтозы с рифампицином (2,5 мг/мл) и натриевой солью олеиновой кислоты (2,5 мг/мл) подвергали нескольким циклам гомогенизации (5-7) с использованием микрофлюидайзера M110EN30K (“Microfluidics”, США), фильтровали на установке “MilliporeCorporation” (США), после чего разливали в стерильные флаконы по 10 мл и лиофилизировали

с помощью сублимационной сушки Virtis AdVantageXL (США) [21]. Перед использованием препарат регидратировали до исходных концентраций.

Для исследования *in vitro* противотуберкулёзной активности был использован чувствительный лабораторный штамм *M. tuberculosis H37Rv*, хранящийся в криопровирках с жидкой средой Дюбо (“Difco”, Нидерланды) с 20% глицерином при -70°C в коллекции микобактериальных культур Центрального научно-исследовательского института туберкулёза. Антибактериальное действие препаратов рифампицина оценивали по влиянию на рост клеток в автоматизированной системе учёта роста культур BACTEC MGIT 960 (“BectonDickinson”, США), фиксирующей жизнеспособность клеток по потреблению ими кислорода в специальной среде (Middlebrook 7H9). Для этого использовали специальные пробирки MGIT со связанным флуорофором, флуоресценция которого пропорциональна потреблению клетками кислорода [23]. Препараты рифампицина (в свободной форме или в составе фосфолипидно-олеатных наночастиц) вносили в среду до конечных концентраций 0,25 мкг/мл, 0,5 мкг/мл, 1 мкг/мл и 2 мкг/мл в трёх повторностях. Динамику роста клеток оценивали в относительных единицах флуоресценции (ОЕФ) с помощью программного обеспечения Epicenter (“BD”, США), согласно протоколу используемой системы в течение 42 дней [23]. После этого определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК), при которой происходит полное угнетение роста бактерий в течение всего эксперимента (показатель, принятый для оценки активности антибактериальных агентов).

Противотуберкулёзную активность композиции рифампицина *in vivo* оценивали на экспериментальном генерализованном туберкулёзе у мышей, вызванном штаммом *M. tuberculosis Erdman*. Препараты вводили ежедневно внутрижелудочно в дозе 10 мг/кг (по рифампицину) в течение 6 недель, по профилактической схеме, начиная с 3-го дня после заражения. По окончании эксперимента животных декапитировали и оценивали эффективность лечения по индексу поражения лёгких, выражаемому в баллах по совокупности экссудативных и продуктивных изменений [24], а также по количеству колониеобразующих единиц (КОЕ) в лёгких. Для определения КОЕ лёгкие гомогенизировали, проводили посев аликвот гомогената на специальную среду, и, после 3-х недель инкубации, подсчитывали число колоний *M. tuberculosis Erdman* [24].

Определение острой токсичности (ЛД₅₀) проводили на мышах с использованием групп по 6 животных. Препараты рифампицина в наночастицах или свободную субстанцию вводили внутрижелудочно через металлический атравматичный зонд (“Instech Laboratories”, США), в возрастающих дозах. Для достижения больших доз препараты вводили животным многократно с интервалами 30 мин в течение 6 ч. Период наблюдения составлял 14 суток. Все эксперименты на животных проводили в соответствии с Международными рекомендациями Европейской

конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (The European Convention, 1986).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика фосфолипидно-олеатной композиции рифампицина

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* использовали ранее описанную композицию [21] после высушивания и регидратации. Её характеристики приведены в таблице 1.

Сравнение приведённых в таблице 1 величин с указанными нами ранее для свежеприготовленной системы (до высушивания) [21] показывает близкие значения, что свидетельствует о стабильности системы. Наличие отрицательного заряда на поверхности наночастиц (характеризуемое дзета-потенциалом) может способствовать захвату наночастиц макрофагами [16]. На основании данных ряда работ по изучению локализации рифампицина в липосомах с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии и ядерно-магнитного резонанса можно полагать, что в полученных наночастицах, как и в липосомах, препарат локализуется между жирнокислотными цепями фосфолипидного слоя [12, 17].

Основное свойство, отличающее данную композицию от описанных ранее, – это наноразмер транспортирующих рифампицин наночастиц. В работе Манса и соавт. [15], где рифампицин включали в липосомы, также содержащие олеиновую кислоту, сообщается о минимальном (по сравнению с другими исследованиями [8-14]) размере липосом ~100 нм. В предлагаемой композиции размер наночастиц в 4 раза меньше, 26 нм,

Таблица 1. Характеристика композиции рифампицина в фосфолипидно-олеатных наночастицах, используемой в экспериментах по оценке противотуберкулёзной активности (после высушивания и регидратации)

Параметр	Величина
Диаметр частиц, нм	26±3,2
Процент включения рифампицина, %	91±2,1
Дзета-потенциал, мВ	-25±1,3

что, по современным представлениям [1, 2], должно способствовать эффективности включенного лекарства. Ранее, с использованием для сравнения таких же наночастиц на основе только фосфатидилхолина, нами были отработаны состав и технология получения оптимальной композиции, с наибольшим включением рифампицина, что рассматривается также как одно из преимуществ современного уровня развития технологий [12].

Противотуберкулёзное действие *in vitro* на клетки *M. tuberculosis H37Rv*

В экспериментах *in vitro*, начиная с 10-12 дня после посева культуры *M. tuberculosis H37Rv*, в автоматизированной системе учёта роста клеток наблюдалось возрастание флуоресценции присутствующего флуорофора, фиксируемое по увеличению ОЕФ, что свидетельствовало о начале роста клеток. В средах с добавлением рифампицина при концентрациях 2 мкг/мл и 1 мкг/мл при добавлении обеих форм препарата роста клеток на этом сроке и далее (в течение 42 дней) не происходило. При меньших концентрациях (0,5 мкг/мл и 0,25 мкг/мл) на различных сроках эксперимента наблюдалось начало роста клеток (возрастание ОЕФ). При этом время начала роста и его процент от контроля, определяющие степень ингибирования роста клеток, зависели как от вводимой дозы, так и от использованной формы лекарства – свободного или включённого в наночастицы (табл. 2).

Из таблицы 2 видно, что если добавление в среду высоких концентраций рифампицина – как свободного, так в наночастицах (до 1 мкг/мл и более) – полностью подавляло рост клеток до самого конца эксперимента, то при снижении его концентраций до уровня 0,5 мкг/мл и ниже, стали проявляться различия в действии двух сравниваемых форм препарата. Для свободного рифампицина при концентрации 0,5 мкг/мл в последние два-три дня (на 40-42 дни эксперимента) начинался небольшой рост клеток, менее процента от такового в среде без препарата (контроль), то есть МИК, вызывающая полное угнетение роста, составляла 1 мкг/мл. Рифампицин же в наночастицах, с диаметром до 30 нм, при этой концентрации (0,5 мкг/мл) и выше полностью тормозил рост клеток до самого конца эксперимента.

Таблица 2. Ингибирование роста клеток *M. tuberculosis H37Rv* при различных концентрациях в среде свободного рифампицина и рифампицина в наночастицах

	Концентрация рифампицина в среде роста		
	1 мкг/мл	0,5 мкг/мл	0,25 мкг/мл
Свободный рифампицин	100% ингибирование роста в течение всего эксперимента*	Рост клеток на 40-42-й день – 0,1-1% от контроля* (99% ингибирование)	Рост клеток на 26-27-й день
Рифампицин в наночастицах	100% ингибирование роста в течение всего эксперимента	100% ингибирование роста в течение всего эксперимента	Рост клеток на 42-й день

Примечание: * – процент ингибирования роста рассчитывался по величинам ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) по отношению к контролю, без добавления рифампицина; величины ОЕФ в автоматизированной системе ВАСТЕС MGIT 960 пропорциональны количеству кислорода, потребляемого растущими клетками (см. раздел “Методика”).

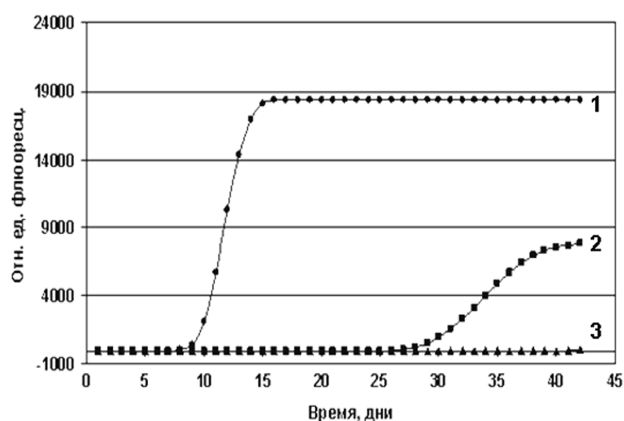


Рисунок. Влияние присутствия в среде рифампицина в свободной форме или в наночастицах на рост клеток *M. tuberculosis H37Rv* при концентрации рифампицина 0,25 мкг/мл. 1 – контроль, 2 – свободный рифампицин, 3 – рифампицин в наночастицах (отн. ед. флуоресценции как показатель роста клеток, ОЕФ – см. подпись к таблице 2 и раздел “Методика”).

И лишь снижение концентрации рифампицина до 0,25 мкг/мл позволило получить в последний, 42-й день небольшой рост, ~0,5% от контроля. Таким образом, величина МИК для рифампицина в наночастицах составляла 0,5 мкг/мл, то есть была вдвое меньше, чем для свободной субстанции (1 мкг/мл).

Динамика роста клеток при концентрации рифампицина в среде 0,25 мкг/мл для свободного препарата (кривая 2) и в составе разработанной композиции (кривая 3) по сравнению с контролем (кривая 1) приведена на рисунке.

Как видно из рисунка, при этой концентрации рифампицина рост бактериальных клеток в случае свободного лекарства начинался на 27-й день, и к концу эксперимента (на 42-й день) составлял почти половину от такового в контроле (7837 ед. по сравнению с 18380 ед.). Рифампицин, встроенный в наночастицы, в течение практически всего эксперимента полностью подавлял клеточный рост. Лишь в последний день наблюдался ничтожно малый рост клеток (величина ОЕФ составляла 103 ед., то есть была ничтожно мала на фоне контроля и практически неразличима на рисунке). Более активное подавление роста клеток рифампицином при его введении в среду в виде нанофосфолипидной композиции свидетельствует о большем проникновении этого антибиотика в бактериальные клетки по сравнению с его введением в виде свободной субстанции.

Сходные результаты были получены ранее другими авторами для рифампицина в липосомах из соевого фосфатидилхолина с холестерином (1:1) на клетках *Mycobact. bovis* [25]. Показанное нами ранее повышение ассоциации рифампицина в составе наночастиц с липопротеинами низкой плотности (ЛПНП) плазмы также может вносить вклад в увеличение эффективности встроенного в наночастицы препарата по сравнению со свободным рифампицином [26]. В этом случае рецепторы ЛПНП, очевидно, способствуют

его проникновению в макрофаги [27]. Полученные данные указывают на возможность более выраженного противотуберкулезного действия рифампицина в фосфолипидно-олеатных наночастицах при попадании в кровяное русло, то есть в условиях ингаляционного или инъекционного введения.

Противотуберкулезное действие *in vivo*

Преимущество рифампицина, включенного в фосфолипидно-олеатные наночастицы ультрамалого размера, по сравнению со свободным лекарством также было показано *in vivo* на мышах с экспериментальным генерализованным туберкулезом, индуцированным штаммом *M. tuberculosis Erdman*. Препараты начинали вводить перорально на 3-й день после заражения, ещё при отсутствии клинических признаков заболевания. Через 6 месяцев в лёгких животных обеих групп наблюдали сформировавшиеся очаги поражения, однако они были выражены в различной степени (табл. 3).

Как видно из таблицы 3, индекс поражения лёгких был достоверно ниже в группе мышей, получавших рифампицин в наночастицах, чем у животных, получавших этот антибиотик в свободном виде. Наиболее выраженными оказались различия в числе КОЕ в лёгких – показатель КОЕ оказался в 22 раза более низким при использовании фосфолипидно-олеатной композиции рифампицина по сравнению с группой животных, получавших свободное лекарство (1,7 ед. и 37,4 ед. соответственно). Результаты этого эксперимента, как и выше приведённые данные *in vitro*, служат подтверждением повышения противотуберкулезной активности рифампицина при встраивании в фосфолипидно-олеатные наночастицы.

Снижение показателей токсичности

Наряду с повышением противотуберкулезной активности, рифампицин в наночастицах проявил при токсикологическом исследовании при внутрижелудочном введении мышам значительно меньшую токсичность, чем в свободном виде, что выразилось в почти двукратном повышении величины ЛД₅₀ (табл. 4).

Таблица 3. Показатели противотуберкулезной активности рифампицина, включенного в фосфолипидно-олеатные наночастицы, и свободного рифампицина у мышей с моделью туберкулеза

Препарат	Индекс поражения лёгких (баллы)	Число колониеобразующих единиц (КОЕ)
Свободный рифампицин	1,7±0,08	37,4±15,6
Рифампицин в наночастицах	1,2±0,16 (p<0,02)	1,7±1,1 (p<0,05)

Таблица 4. Значения ЛД₅₀ для рифампицина свободного и включенного в фосфолипидно-олеатные наночастицы

Препарат	ЛД ₅₀ , мг/кг
Рифампицин в наночастицах	5000
Свободный рифампицин	2750

Снижение токсичности, по всей вероятности, связано с двумя факторами. Один из них – это защитное действие фосфолипидных частиц в желудочно-кишечном тракте, снижающее побочные токсические действия лекарства [29]. Кроме того, свойственное фосфолипидам гепатопротекторное действие, особенно в случае их использования в виде наночастиц [30], должно нивелировать гепатотоксичность рифампицина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, включение рифампицина в фосфолипидные наночастицы оказывает оптимизирующее влияние на его лекарственное действие, что может быть обусловлено несколькими механизмами. Во-первых, как было показано нами ранее, при пероральном введении повышается кишечное всасывание (абсорбция) лекарства, увеличивая его биодоступность [21, 22]. Во-вторых, возможное улучшение ассоциации лекарства с ЛПНП в плазме, способствует контакту с макрофагами лёгких – месту резидентной локализации *M. tuberculosis* [26]. И в-третьих, как было показано *in vitro* на липосомах в работе Changsan и соавт. [25] и подтверждено в данной работе на наночастицах, фосфолипиды могут способствовать проникновению рифампицина в бактериальные клетки, одновременно снижая его побочное гепатотоксическое действие.

Таким образом, разработанная нами ранее фосфолипидная наносистема с олеатом натрия с размером частиц менее 30 нм не только повышает биодоступность включённого в неё рифампицина, но также увеличивает его противотуберкулёзное действие и снижает побочные эффекты. Это указывает на перспективность её лекарственного использования для противотуберкулёзной терапии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена за счёт средств ГК №14.N08.11.0004 от 20.11.2012 г. с Министерством образования и науки Российской Федерации.

ЛИТЕРАТУРА

- Castillo P.M., Jimenez-Ruiz A., Carnerero J.M., Prado-Gotor R. (2018) Chemphyschem., **19**(21), 2810-2828. DOI: 10.1002/cphc.201800388.
- Pang L., Zhang C., Qin J., Han L., Li R. et al (2017) Drug Deliv., **24**(1), 83-91. DOI: 10.1080/10717544.2016.1230903.
- Ferraz-Carvalho R.S., Pereira M.A., Linhares L.A. et al. (2016) Mem. Inst. Oswaldo Cruz., **111**(5), 330-334. DOI: 10.1590/0074-02760150454.
- Rieder H.L. (2014) Indian J. Tuberc., **61**(1), 19-29.
- Vieira A.C.C., Chaves L.L., Pinheiro S. et al. (2018) Int. J. Pharm., **536**(1), 478-485.
- Pinheiro M., Lúcio M., Lima J.L., Reis S. (2011) Nanomedicine (Lond.), **6**(8), 1413-1428. DOI: 10.2217/nmm.11.122.
- Швец В.И., Краснополский Ю.М., Сорокоумова Г.М. (2017) Липосомальные формы лекарственных препаратов: технологические особенности получения и применение в клинике. М., "Ремедиум", ISBN: 9785906499202.
- Orozco L.C., Quintana F.O., Beltran R.M. et al. (1986) Tubercle., **67**(2), 91-97.
- Zaru M., Sinico C., De Logu A. et al. (2009) J. Lipid Res., **71**, 88-95.
- Gürsoy A., Kut E., Ozkirimli S. (2004) Int. J. Pharm., **271**(1-2), 115-123.
- Vyas S.P., Kannan M.E., Jain S., Mishra V., Singh P. (2004) Int. J. Pharm., **269**, 37-49. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2003.08.017.
- Changsan N., Chan H.K., Separovic F., Srichana T. (2009) J. Pharm. Sci., **98**(2), 628-639.
- Lankalapalli S., Tenneti V.S. (2016) Curr. Drug Deliv., **13**(7), 1084-1099.
- Patil J.S., Devi V.K., Devi K., Sarasija S. (2015) Lung India, **32**(4), 331-338. DOI: 10.4103/0970-2113.159559.
- Manca M.L., Sinico C., Macconi A.M. et al. (2012) Pharmaceutics, **4**(4), 590-606. DOI: 10.3390/pharmaceutics4040590.
- Kelly C., Jefferies C., Cryan S.-A. (2011) J. Drug Deliv., **2011**, 727241. DOI: 10.1155/2011/727241.
- Минина А.С., Сорокоумова Г.М., Селищева А.А., Маликова Н.М., Калашиникова Т.Ю., Швец В.И. (2004) Биофизика, **49**(4), 674-679.
- Barbassa L., Mamizuka E.M., Carmona-Ribeiro A.M. (2011) BMC Biotechnol., **11**(1), 40-47.
- Pandey R., Sharma S., Khuller G.K. (2005) Tuberculosis (Edinb.), **85**(5-6), 415-420.
- Арчаков А.И. (2010) Биомед. химия, **56**(1), 7-25.
- Санжаков М.А., Прозоровский В.Н., Ипатова О.М., Тихонова Е.Г., Медведева Н.В., Торховская Т.И. (2013) Биомед. химия, **59**(5), 585-590.
- Ipatova O.M., Sanzhakov M.A., Prozorovskiy V.N., Torkhovskaya T.I., Tikhonova E.G., Medvedeva N.V., Archakov A.I. (2013) FEBS J., **280**(Suppl. 1), SW04.S16-286.
- Siddiqi S.H., Riisch-Gerdes S. (2006) MGIT™ Procedure Manual. For BACTEC™ MGIT 960™ TB System. Becton Dickinson and Company, Maryland, USA.
- Александрова А.Е., Ариель Б.М. (1993) Проблемы туберкулёза, № 3, 52-53.
- Changsan N., Nilkaeo A., Pungrassami P., Srichana T.J. (2009) Drug Target, **17**(10), 751-762.
- Санжаков М.А., Ипатова О.М., Прозоровский В.Н., Медведева Н.В., Торховская Т.И. (2014) Биомед. химия, **60**, 348-353. DOI: 10.18097/PBMC20146003348.
- Mankertz J., Nundel M., von Bayer H., Riedel E. (1997) Biochem. Biophys. Res. Com., **204**(1), 112-115.
- Florence A.T., Hillery A.M., Hussain N., Jani P.U. (1995) J. Drug Target, **3**(1), 65-70.
- Küllenberg D., Taylor L.A., Schneider M., Massing U. (2012) Lipids Health Dis., **11**(3), 1-16.
- Ипатова О.М. (2005) Фосфолипиды: механизм действия и применение в клинике. Под ред. академика Арчакова А.И., М., НИИ биомедицинской химии РАМН.

Поступила: 12. 09. 2018.
Принята к печати: 13. 11. 2018.

INCREASE OF ANTITUBERCULOSIS EFFICIENCY OF RIFAMPICIN EMBEDDED
INTO PHOSPHOLIPID NANOPARTICLES WITH SODIUM OLEATE

M.A. Sanzhakov¹, O.M. Ipatova¹, T.I. Torkhovskaya^{1,2}, E.G. Tikhonova^{1,3},
N.V. Medvedeva¹, T.S. Zakharova¹, V.N. Prozorovskiy¹*

¹Institute of Biomedical Chemistry,

10 Pogodinskaya str, Moscow, 119121 Russia; *e-mail: torti@mail.ru

²Scientific Research Institute of Physical-Chemical Medicine, 1a M. Pirogovskaya str., Moscow, 119221 Russia

³PLC "IBMH-EcoBioPharm", Moscow, Russia

The formulation of the antituberculosis drug rifampicin embedded into 20-30 nm nanoparticles from soy phosphatidylcholine and sodium oleate, is characterized by greater bioavailability as compared with free drug substance. In this study higher antituberculosis activity of this formulation was shown. Rifampicin in nanoparticles demonstrated more effective inhibition of *M. tuberculosis* H37Rv growth: minimal inhibiting concentration (MIC) was twice smaller than for free rifampicin. Administration of this preparation to mice with tuberculosis induced by *M. tuberculosis* Erdman revealed that after 6 weeks of oral administration the CUF value in lung was 22 times smaller for rifampicin in nanoparticles than for free drug (1.7 un. vs. 37.4 un.). The LD₅₀ value in mice was two fold higher for rifampicin in nanoformulation.

Key words: phospholipid nanoparticles; rifampicin; antituberculosis therapy; *M. tuberculosis*; cell growth; CUF