

ОБЗОРЫ

УДК 577.175.722, 615.1, 615.032
©Зубаерова, Ларионова

НЕИНВАЗИВНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ИНСУЛИНА

*Д.Х. Зубаерова, Н.И. Ларионова**

МГУ им. М.В.Ломоносова, Химический факультет, 119992, Москва,
Ленинские горы 1/11, 119992; тел.: (495)9393417; факс: (495)9395417;
эл. почта: nilar@enzyme.chem.msu.ru

Рассмотрены коммерческие лекарственные формы инсулина, а также сложности и стратегии при разработке альтернативных систем доставки гормона (транsbукаральной, трансдермальной, интраназальной, ингаляционной и пероральной). На настоящий момент разработана лишь одна клиническая форма неинвазивного инсулина.

Ключевые слова: инсулин, лекарственные формы, системы доставки, пульмонарный инсулин, транsbукаральный инсулин, пероральный инсулин.

1. ТРАДИЦИОННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ИНСУЛИНА.

Сахарным диабетом в мире болеют более 170 миллионов человек. Около 10-15% диабетиков болеют диабетом первого типа – в их поджелудочной железе инсулин не синтезируется совсем или производится в недостаточном количестве [1].

Годовая потребность в инсулине в мире и России оценивается в 3000 и 400 кг чистого вещества соответственно [1], поэтому производство инсулина требует высокотехнологичных способов его массового изготовления. Препараты человеческого инсулина отличаются друг от друга по продолжительности действия, веществам, добавляемым к раствору инсулина и концентрации.

По продолжительности действия препараты инсулина делят на инсулины короткого, среднего и длительного действия. Быстродействующие инсулины вводят непосредственно перед основными приемами пищи. Максимальная активность приходится на интервал между 1,5-3 ч от момента введения. Продолжительность действия (около 6-8 ч) зависит от дозы инсулина: чем большее количество инсулина введено, тем дольше он работает. К таким инсулинам относятся Хумалог, Хумулин-R, Инсулрап, Хоморап, Моносуинсулин и др. [2].

Препараты средней продолжительности действия составляют самую большую группу [3]. Они начинают действовать через 1-2-3 ч после введения, имеют разные пики активности: между 4 и 8 или 6 и 12 ч от инъекции, и продолжительность действия - от 10-16 ч до 18-24 ч. К этим препаратам относятся Семиленте, Инсулонг, Ленте, Монотард, Протафан, Актрафан, Хумулин-M и др. Для получения более продолжительного эффекта в инсулин добавляют вещества, замедляющие его всасывание. Комбинация инсулина и вещества-замедлителя

* - адресат для переписки

обычно приводит к образованию кристаллов, которые под кожей постепенно высвобождают инсулин, и тот всасывается в кровь [2]. Инъекции этих инсулинов делают обычно 2 раза в сутки.

Существуют также смеси из быстродействующего инсулина и инсулина средней продолжительности действия (Микстард 30). Препараты с продолжительностью действия более 24 ч (до 36-38 ч) называются инсулинами длительного действия. Длительно действующие инсулины начинают действовать через 4-6 ч, пик активности - между 14 и 22-24 ч, общая продолжительность действия – 28-36 ч. К ним относятся Ультратард, Ультраленте-илетин-1, Хуминсулин ультралонг и др.

Несмотря на широкую распространённость, все традиционные препараты инсулина обладают серьёзными недостатками. В их числе вариабельность абсорбции и значительные интра- и межиндивидуальные различия фармакодинамического эффекта. Главным недостатком является то, что фармакокинетический профиль традиционных препаратов инсулина не позволяет достичь постоянной концентрации инсулина плазмы, аналогичной физиологическому уровню. А ведь поддержание уровня глюкозы в крови как можно более приближенным к нормальному без риска гипогликемий является основной целью лечения диабета [4, 5].

2. ИНЪЕКЦИОННЫЕ ФОРМЫ АНАЛОГОВ ИНСУЛИНА И ЕГО КОНЬЮГАТОВ.

С развитием биотехнологии стало возможным производить инсулины с изменённой аминокислотной последовательностью, тем самым влияя на их физико-химические, биологические и фармакокинетические свойства. Было синтезировано более 300 аналогов инсулина [6], но лишь немногие из них достигли рынка.

Основная цель создания таких аналогов инсулина – устранение недостатков традиционных препаратов: пролонгирование или, напротив, ускорение действия; повышение стабильности нативного инсулина; устранение вариабельности действия и приближение изменений концентрации глюкозы в крови к физиологическим [4].

Первым аналогом человеческого инсулина, который был введён на рынок, стал инсулин Lispro (известный также как Humalog). Он отличается от инсулина человека инверсией аминокислотных остатков в положениях B28 и B29. Такая инверсия позволяет уменьшить взаимодействие между В-цепями инсулина и тем самым ускорить его действие [7]. С-концевые аминокислотные остатки в В-цепи играют важную роль в способности молекулы инсулина человека к образованию димеров и гексамеров в растворе. При подкожном введении инсулин Lispro мгновенно диссоциирует до мономеров, в то время как обычный препарат инсулина остаётся в гексамерной форме [4]. При этом наблюдается более адекватный ответ к уровню глюкозы в крови. Препарат начинает действовать через несколько минут после инъекции, пик действия наблюдается через час, действие длится около 4 ч [7].

Похожими свойствами обладает другой быстродействующий аналог инсулина – Aspart (известный также как Novolog, Actrapid и Asp B28), отличающийся от нативного инсулина человека заменой Pro на Asp в положении B28. Механизм ускорения действия такой же, как в случае инсулина Lispro [8]. Препарат начинает действовать через 15 мин после инъекции, пик действия достигается через 40-50 мин, действие длится 6 ч. При этом пиковые концентрации в 2 раза превышают концентрации в случае использования обычного инсулина в тех же дозах [4].

Apidra – торговое название другого быстродействующего аналога инсулина Glulisine, недавно появившегося на рынке. От нативного человеческого инсулина он отличается двумя заменами: в положениях B3 и B29. Его профиль действия похож на профили Aspart и Lispro [4].

Все вышеперечисленные аналоги инсулина являются быстродействующими препаратами. Больным диабетом было бы гораздо удобнее принимать препараты с пролонгированным действием. Первым таким пролонгированным аналогом стал инсулин Glargine (торговое название – Lantus). Увеличить длительность действия удалось за счёт присоединения двух остатков Arg к С-концевому остатку В-цепи, сдвинув изоэлектрическую точку инсулина с 5,4 до 6,7 и тем самым понизив растворимость при введении подкожно [4]. Замена Asp на Gly в положении A21 нужна для предотвращения дезаминирования и димеризации при кислых значениях pH. Препарат начинает действовать через час после инъекции, длительность действия составляет около 24 ч. На настоящий момент это единственный инсулин, рекомендованный для инъекций 1 раз в сутки.

Присоединение к молекуле инсулина жирных кислот, способных связываться с альбумином, позволило получить инсулиновый аналог, который остается в растворенном состоянии после инъекции. Таким препаратом стал Levemir – торговое наименование инсулина Detemir. Молекулярная структура инсулина Detemir отличается от структуры человеческого инсулина присоединением к Lys в положении B29 жирнокислотного остатка миристиновой кислоты [9]. Ацилирование молекулы инсулина жирной кислотой обеспечивает связывание с альбумином и пролонгирует всасывание из подкожно-жирового слоя [10]. После инъекции инсулин Detemir образует жидкостное депо в подкожно-жировой клетчатке. Молекулы инсулина в растворе соединены в гексамеры. Как только введенный инсулин Detemir попадает в интерстициальную жидкость, некоторые гексамеры обратимо агрегируют с образованием дигексамеров. Такая агрегация происходит в результате контакта между цепями жирных кислот молекул инсулина Detemir [11]. Было показано, что инсулин Detemir обладает дозозависимой длительностью действия [12]. Была выявлена линейная взаимосвязь дозы и ответной реакции для фармакокинетического и фармакодинамического эффектов. При дозе инсулина Detemir 0,4 Ед/кг длительность действия составляла 20 ч.

В работе [13] показано, что пришивка инсулина к альбумину позволила увеличить продолжительность действия инсулина в 4 раза по сравнению с нативным инсулином, введенным в той же дозе, при этом образованный конъюгат был водорастворимым.

Пролонгировать время действия инсулина и увеличить устойчивость белка к протеолизу по сравнению с традиционными препаратами позволяет также ковалентная сшивка гормона с полимерами [14]. Среди полимерных конъюгатов наибольшее распространение получили различные конъюгаты с активированным ПЭГ.

Конъюгат инсулина с карбоксиметилдекстраном обладал в 10 раз более длительным гипогликемическим эффектом, чем нативный инсулин, а его биоактивность была ниже в 3 раза (на крысах) [15].

Таким образом, многочисленные исследования продемонстрировали клинически значимые преимущества терапии аналогами и конъюгатами перед использованием соответствующих традиционных препаратов инсулина [4, 6, 8-12].

Однако для людей, страдающих диабетом, более удобным было бы неинвазивное введение инсулина.

3. АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ СПОСОБЫ ДОСТАВКИ ИНСУЛИНА.

За 85 лет, которые прошли с момента открытия инсулина, было опубликовано более 2000 статей, посвященных различным аспектам доставки инсулина [12]. Среди альтернативных путей доставки инсулина были исследованы окулярный (через глаз), ректальный (через прямую кишку), трансдермальный (через кожу), трансбуккальный (через слизистую ротовой полости), сублингвальный (под язык), интраназальный (через носовую полость), пульмонарный (через лёгкие) и пероральный (через желудочно-кишечный тракт) [16]. Тем не менее, к настоящему моменту лишь одна форма неинвазивного инсулина разрешена для клинического применения, хотя существует множество идей, разработок и препаратов, проходящих различные фазы клинических испытаний (табл. 1).

НЕИНВАЗИВНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ИНСУЛИНА

Таблица. Новые разработки в области неинвазивной доставки инсулина (по базе данных www.phrma.org).

| Путь доставки | Название и технология | Фирма-производитель | Статус (стадия клинических испытаний) |
|------------------------------|---|--|---------------------------------------|
| Транс-буккальный | Generex Oral-lyn, Технология Rapid Mist | Generex, США www.generex.com/products/oral-lyn | III* |
| Транс-дермальный | U-strip | Dermisonics, США http://www.dermisonics.com | I |
| | PassPort Patch | Altea Therapeutics, США http://www.alteatherapeutics.com | I |
| | | Институт трансплантологии, Россия | I-II |
| Интра-назальный | Nasulin, технология CPE-215 | Bentley Pharmaceuticals, США www.bentleypharm.com | II |
| | Технология Exubera Inhalation Powder | Nastech Pharmaceutical, США http://www.nastech.com/nastech/diabetes | I |
| Ингаляционный (пульмонарный) | Технология Exubera Inhalation Powder | Pfizer/Nektar Therapeutics, США | Регистрация |
| | Технология AERx iDMS | Aradigm/Novo Nordisk, США-Дания www.aradigm.com | III |
| | Технология AIR | Alkermes/Eli Lilly, США | III |
| | Технология Technosphere | MannKind Corporation, США | III |
| | RHIP, технология микросфер PROMAXX | Baxter Healthcare, США | I |
| | Alveair | Coremed, США-Япония | I |
| Пероральный | HIM2 www.biocon.com | Nobex/Biocon, США-Индия | I |
| | Intesulin | Coremed, США-Япония http://www.coremedusa.com | I |
| | Технология EMISPHERE eligen | Emisphere Technologies, США | II |

Примечание: * - препарат уже доступен в Эквадоре.

В работе [4] рассмотрены попытки создания окулярного инсулина, но ни одна из них не увенчалась успехом. Был сделан вывод, что такой метод не подходит для доставки инсулина.

Преимуществом ректального пути доставки является прямое попадание инсулина в кровоток через лимфатическую систему, недостатком – невозможность абсорбции инсулина без применения веществ, усиливающих абсорбцию [4]. Однако даже с применением таких веществ биодоступность инсулина при ректальном методе доставки составляет 4-10%. Кроме того, в работе [17] было показано, что действие ректального инсулина гораздо короче действия инсулина,

введённого подкожно. На данный момент нет разработок ректального инсулина, дошедших до клинических испытаний.

3.1. Трансдермальный путь доставки.

Доставка инсулина через кожу является перспективной из-за лёгкости апплицирования и большой площади поверхности кожи (1-2 м²). Серьёзной проблемой трансдермального пути доставки является плохая проницаемость липидного рогового слоя кожи для таких больших и гидрофильных молекул, как инсулин. Для преодоления липидного барьера применяют химические, электрические и физические методы. Самым распространённым методом является ионтофорез или низкочастотный ультразвук [18]. На этом методе основана новая разработка компании Dermisonics – технология U-strip, позволяющая вводить инсулин через кожу (табл. 1). Ультразвуковой генератор увеличивает размер пор кожи, инсулин проходит через них и попадает в кровоток [<http://www.dermisonics.com/transdermal-system.html>].

Несколько иная технология у компании Altea Therapeutics: в этом случае за счёт электрической и термической энергии “срывается” роговой слой кожи, образуя микроканалы, через которые инсулин поступает в кровь [<http://www.alteatherapeutics.com>]. Введённый таким образом инсулин начинает действовать практически сразу, а продолжительность его действия составляет около 13 ч [19].

Также существует российская разработка трансдермального инсулина на основе спирторастворимого сополимера бутилметакрилата и метакриловой кислоты. Инсулин находится в системе в эмульсионной форме. *In vitro* было показано, что скорость диффузии инсулина из такой транспортной системы площадью 20 см² через кожу составляет около 1,7 Ед/ч и соответствует физиологическому уровню секреции гормона поджелудочной железой. *In vivo* на людях показано наличие гипогликемического эффекта в течение 2 суток [20]. На настоящий момент все три разработки проходят начальную фазу клинических испытаний (табл. 1).

Таким образом, трансдермальная доставка представляется достаточно перспективным путём введения инсулина.

3.2. Трансбуккальный и сублингвальный пути доставки.

Преимуществами доставки инсулина через ротовую полость являются доступность и большая площадь поверхности для абсорбции (100-200 см²), практически полное отсутствие протеолитических ферментов и большое количество сосудов [4]. Однако серьёзными барьерами для абсорбции инсулина являются слоистая структура эпителия ротовой полости и слюна. Для преодоления этих барьеров были использованы различные вещества, повышающие абсорбцию (желчные соли, хелатирующие агенты, жирные кислоты и др.). Однако в этом случае снижение уровня глюкозы в крови *in vivo* составляло лишь 30% по сравнению с традиционным инсулином, введённым с помощью инъекций [18].

Новая разработка компании GenereX – инсулин Oral-lyn (ранее Oralin) – на настоящий момент является единственной трансбуккальной формой инсулина, проходящей последнюю стадию клинических испытаний (табл. 1). Препарат уже доступен в Эквадоре. В данном случае используется запатентованная технология компании Rapid Mist, позволяющая вводить инсулин в ротовую полость при помощи спрея [www.genereX.com/products/oral-lyn]. Согласно результатам клинических испытаний, действие Oral-lyn начинается быстрее, чем в случае подкожно введённого инсулина [21].

3.3. Интраназальный путь доставки.

Площадь эпителиальной поверхности носовой полости достаточно большая (150 см²), но основными барьерами для доставки инсулина таким методом является мукоцилиарный клиренс, трудности при проникновении через эпителиальный слой и ферментативная деградация (в слизистой оболочке носа присутствуют протеолитические ферменты (в основном аминопептидазы) и лизоцим) [18].

По этим причинам эффективная абсорбция инсулина назальным путем практически невозможна без применения веществ, повышающих абсорбцию, способных к модулированию проницаемости назального эпителия и пролонгированию времени действия лекарства [22]. Для этих целей применяют стимуляторы абсорбции, ингибиторы протеаз и мукоадгезивные вещества [18, 22, 23].

На ранних стадиях исследования по улучшению интраназальной абсорбции инсулина были использованы желчные соли, сапонины, тауро-дигидроксифузидат, диоксихолат. Почти все эти вещества увеличивали абсорбцию инсулина до 12-20%, но все они вызывали раздражение слизистой носа [24].

В некоторых работах для улучшения абсорбции различных лекарственных веществ были использованы хелатирующие агенты, в особенности ЭДТА. Улучшение абсорбции при помощи хелатирующих агентов связано с их способностью раскрывать плотные клеточные контакты путём хелатирования двухвалентных катионов (Mg^{2+} и Ca^{2+}). Последние, в свою очередь, играют важную роль в структуре и жёсткости клеточных мембран [25]. Несмотря на то, что ЭДТА не оказывает раздражающего влияния на слизистую носа, такой метод в случае инсулина оказался малоэффективным. В то же время было показано, что жирные кислоты (например, капроновая) и фосфолипиды (например, лецитин) увеличивают абсорбцию инсулина в несколько раз [26].

Также для увеличения биодоступности инсулина, вводимого интраназально, используют вещества, которые одновременно увеличивают вязкость и при этом обладают биоадгезивными свойствами [26]. Среди таких веществ карбопол (производное полиакриловой кислоты, образующее гели при низких концентрациях), карбоксиметилцеллюлоза. Карбопол способствует абсорбции инсулина в носовой полости, в то время как карбоксиметилцеллюлоза – нет, из чего можно сделать вывод о том, что вязкость и биоадгезивность – не единственные факторы, влияющие на интраназальную абсорбцию инсулина.

Были исследованы биоадгезивные системы доставки инсулина с применением различных микросфер из сефадекса, крахмала и хитозана [26]. Предполагается, что положительно заряженные вещества, такие как хитозан, способны взаимодействовать с отрицательно заряженной слизистой носовой полости и увеличивать абсорбцию путём более тесного контакта с мембранами. Отрицательно заряженный гепарин нивелировал клеточные и абсорбционные изменения, вызываемые хитозаном [27]. Авторами работы [27] был сделан вывод, что хитозан увеличивает абсорбцию парацеллюлярным путём из-за структурных изменений в плотных клеточных контактах.

Авторами работы [26] было показано, что у овец применение хитозана увеличивало абсорбцию более эффективно, чем лецитин. Позже те же авторы показали, что степень интраназальной абсорбции зависит от концентрации хитозана. Те же авторы исследовали другую систему интраназальной доставки инсулина на основе хитозана (0,5 весовых %, pH 4). Максимум действия инсулина, введённого при помощи спрея с такой системой доставки, достигался через 20 мин, а продолжительность действия составляла всего 90 мин, в то время как инсулин, введённый подкожно, достигал максимума действия через 80 мин, а действие длилось 6 ч.

В настоящее время существуют две новые разработки интраназального инсулина, проходящие клинические испытания (табл. 1). Одна из них – Nasulin, разработка компании Bentley с применением собственной технологии доставки лекарственных средств через мембраны кожи, ротовой и носовой полостей CRE-215. Во время клинических испытаний (II стадия) пациентам рекомендовано применять спрей Nasulin 3 раза в день [www.bentleypharm.com].

Вторая разработка принадлежит компании Natestch Pharmaceutical с применением технологии Exubera Inhalation Powder. По результатам начальной фазы клинических испытаний, препарат обладает очень быстрым действием с максимумом через 16-19 мин [http://www.natestch.com/natestch/diabetes].

По сравнению с традиционной инвазивной доставкой инсулина, интраназальный путь гораздо более быстрый. Серьёзным недостатком этого метода доставки является частое раздражение слизистой носа (около 25% испытуемых) [28].

3.4. Ингаляционный (пульмонарный) путь доставки.

На сегодняшний день ингаляционный или пульмонарный путь доставки инсулина, при котором пациент вдыхает лекарство через специальные ингаляторы, привлекает к себе большое внимание учёных и фирм-производителей. Большой интерес к пульмонарному пути доставки инсулина вызван следующими причинами. Во-первых, это большая площадь поверхности лёгких (около 140 м²); во-вторых, это возможность быстрого парацеллюлярного транспорта инсулина через эпителиальный монослой альвеолярной поверхности; в-третьих, иммунотолерантная природа лёгких; и, в-четвёртых, отсутствие протеолитических ферментов. Однако у этого метода есть и ограничения, среди которых цитозольная биодegradация инсулина и сложность перевода инсулина в пригодные для ингаляции формы [18].

В настоящий момент существует ряд разработок ингаляционного инсулина, проходящих последнюю фазу клинических испытаний (табл. 1). Инсулин переводят в ингаляционную форму при помощи дозированных ингаляторов под давлением, сухих порошковых ингаляторов и распылителей [18].

Совместная разработка фирм Pfizer и Nektar Therapeutics – технология Exubera Inhalation Powder – недавно успешно прошла все клинические испытания и находится на стадии регистрации. Разработка разрешена в Европе и США для обоих типов диабета, но только для взрослых пациентов. [http://www.nektar.com/wt/page/inhaled_insulin]. Реально это пока единственная в мире клиническая форма, использующая неинвазивную систему доставки инсулина. Она представляет собой порошковый ингалятор с применением сжатого воздуха для диспергирования порошка инсулина в специальный резервуар для ингаляции. Порошок инсулина превращается в аэрозоль с размером частиц около 3 мкм, пригодный для ингаляции. Сухой порошок состоит из инсулина лишь на 60%, остальные компоненты – наполнители, в основном маннитол в качестве стабилизатора. Одноразовый расход порошка – 28 или 84 Ед инсулина. Эффективность такой системы доставки оценивают как 10% от эффективности инсулина, введённого подкожно. Ингаляционный инсулин обладает более быстрым действием по сравнению с подкожно введённым, его действие длится от 5 до 10 ч [18].

Ингаляционный инсулин RHIP по технологии микросфер PROMAXX фирмы Baxter Healthcare только начал проходить клинические испытания. Ингаляционный порошок в этом случае практически полностью состоит из инсулина (на 95%), а образующиеся микросферы имеют очень узкое распределение по размерам. Во время клинических испытаний для ингаляции используют 6,5 мг инсулиновых микросфер. Время действия такого инсулина составляет около 6 ч, максимальная концентрация инсулина достигается через 1,5 ч после вдыхания. Биодоступность RHIP составляет 12% по отношению к инсулину, вводимому подкожно [<http://www.baxter.com>].

Следует отметить, что недостатком сухих порошковых ингаляторов является гигроскопичность порошка и большая вариабельность среди пациентов [29].

Совместная разработка фирм Aradigm и Novo Nordisk – технология AERx iDMS – проходит последний этап клинических испытаний (табл. 1). Изобретение представляет собой ингалятор водно-туманного типа, в котором образуются аэрозольные частицы инсулина размером 2 мкм [30]. Эффективность системы оценивается как 50% [31]. Этот инсулин тоже является быстродействующим, максимум его действия достигается через 7-20 мин [32].

Ещё две разработки, заключающиеся в модификации ингалируемых частиц, на данный момент проходят последнюю стадию клинических испытаний.

Это технология AIR фирм Alkermes/Eli Lilly и технология Technosphere MannKind Corporation (табл. 1). В первом случае частицы размером 10-20 мкм состоят из фосфолипидной биodeградируемой матрицы. Образующиеся частицы легко превращаются в аэрозоль, активируясь дыханием [33]. По технологии Technosphere инсулиновые частицы захватываются производным дикетопиперазина. Образующаяся при этом система в кислых значениях pH самоорганизуется в упорядоченную решёточную структуру. При попадании частиц на альвеолярную поверхность лёгких, имеющую нейтральные значения pH, структура диссоциирует, быстро высвобождая инсулин [34]. Пиковый уровень концентрации инсулина в крови достигается через 12-14 мин, действие инсулина длится около 3 ч.

Несмотря на большой интерес среди учёных и разработчиков, ингаляционный метод доставки инсулина далеко не идеален. К его недостаткам следует отнести короткое время действия, а также сложности при применении у пациентов, страдающих лёгочными заболеваниями, и курильщиков. Известно, что абсорбция ингаляционного инсулина резко увеличивается у курящих людей, но при этом время действия такого инсулина резко сокращается по сравнению с некурящими людьми. Так, по данным работы [4], при одинаковых условиях максимальная концентрация инсулина в крови при ингаляционном введении составляла 72 мкЕд/мл у курящих людей и лишь 16 мкЕд/мл у некурящих.

3.5. Пероральный путь доставки.

Наиболее естественным способом доставки инсулина является пероральный путь, ведь известно, что все вещества, всасываемые в кровь из пищеварительного тракта, проходят через печень и в ней перерабатываются [35]. В норме секретируемый инсулин из поджелудочной железы попадает в печень через кровеносные сосуды; печень, в свою очередь, контролирует количество инсулина, достигающего другие органы и ткани [36]. Наиболее благоприятным отделом желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) для всасывания лекарственных средств, введённых перорально, является тонкий кишечник, в основном, из-за большой площади поверхности (около 200-500 м²) [37]. Инсулин в этом случае абсорбируется через брыжеечную вену, далее через портальную и воротную вены попадает в печень [38]. Таким образом, при пероральном пути доставки возможен контроль секреции инсулина, который отсутствует при инъекционном введении и других альтернативных путях его доставки.

Кроме того, пероральный путь доставки инсулина является самым удобным для пациентов. И, наконец, пероральный метод доставки требует самых простых технологических форм (таблеток или капсул) [39]. Однако этот путь требует наиболее сложных и наукоёмких препаратов из-за нестабильности белков в условиях ЖКТ.

Известно, что биодоступность инсулина, введённого перорально, не превышает 1-2% [18, 40]. Связано это со следующими причинами. Во-первых, это денатурация белка при экстремальных значениях pH желудочного сока; во-вторых, расщепление белка под действием протеолитических ферментов тонкого кишечника; и, в-третьих, плохая всасываемость белковых молекул.

Для защиты от денатурации при кислых значениях pH желудочного сока было предложено либо модифицировать инсулин различными соединениями для увеличения стабильности [20], либо покрывать его pH-чувствительной и другими оболочками, либо включать его в pH-чувствительную матрицу [40].

Одна из разработок с использованием ковалентной сшивки гормона с низкомолекулярными амфифильными носителями [18] на данный момент проходит первую стадию клинических испытаний. Это так называемый гексил-инсулин моноконъюгат-2 (НМ2), совместная разработка компаний Nobex Corporation и Bioncon. Алкилполиэтиленгликоль присоединён к инсулину через Lys, находящийся в положении В29. Такая модификация позволяет увеличить растворимость инсулина, повысить его стабильность по отношению к действию протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта [18] и при этом

сохранить активность [41]. В проведённых клинических исследованиях было показано, что Н1М2 понижает и стабилизирует уровень глюкозы в течение 2 ч, при этом действие препарата начинается через 30 мин после приёма [41].

При создании pH-чувствительных покрытий оболочка должна оставаться стабильной при низких pH, соответствующим pH желудка, и высвобождать инсулин при значениях pH, соответствующих кишечнику [40]. pH желудка натощак 1-3, а после еды 4-5; pH тонкого кишечника 6-8 [37]. Такими свойствами, например, обладают полиакриловые покрытия Eudragit L100 и S100. Было показано, что капсулы из Eudragit L100 высвобождают инсулин в двенадцатиперстной и тощей кишках, но также высвобождают часть белка в желудке, а капсулы из Eudragit S100 устойчивы при кислых pH и высвобождают гормон лишь в тонком кишечнике. В исследованиях *in vivo* на крысах наблюдалось 10 %-ное снижение уровня глюкозы в крови в обоих случаях [40].

В работах [42, 43] для пероральной доставки инсулина использовали гидрогель на основе полиметакрилата и полиэтиленгликоля, в микросферы которого включали инсулин. Такие гидрогели отличаются быстрым высвобождением инсулина *in vitro*, обладают мукоадгезивными свойствами, а также способны ингибировать протеолитические ферменты. Было показано, что такой pH-чувствительный гель не набухает при кислых значениях pH желудочного сока и способствует сохранению инсулина; и, напротив, при pH кишечника происходит резкое набухание гидрогеля, приводящее к высвобождению инсулина. В исследованиях *in vivo* на крысах наблюдалось падение уровня глюкозы, действие инсулина длилось около 8 ч.

В работе [44] для пероральной доставки белков был впервые применён новый pH-чувствительный гидрогель на основе N,O-карбоксиметилхитозана и альгината, сшитый природным веществом генипином. В исследованиях *in vitro* было показано, что в течение нескольких часов при pH 1,2 высвобождается только 20% инсулина, а при pH 7,4–80%.

Следующий барьер для абсорбции инсулина – его ферментативная деградация. В ЖКТ присутствует большое количество протеолитических ферментов, способных расщеплять инсулин (пепсины, трипсин, химотрипсин, эластаза, эндопептидазы, катепсин В). В работе [37] приведено весовое соотношение протеаз, выделяющихся в просвет тонкого кишечника после приёма пищи: соотношение трипсина к химотрипсину и к эластазе составляет примерно 20:1:2. Известно, что за сутки при употреблении в пищу от 10 до 100 г белка секретруется около 45 г вышеперечисленных ферментов (суммарно). В работе [45] показано, что за 40 мин свиной инсулин практически полностью разрушается α -химотрипсином при соотношении инсулина к ферменту 170:1, pH 8,0 и 37°C.

Для защиты от воздействия протеолитических ферментов тонкого кишечника – трипсина, химотрипсина, карбоксипептидаз и эластазы – японскими исследователями впервые был предложен метод одновременной доставки инсулина с ингибиторами протеиназ [46]. Чаще всего в качестве ингибитора протеиназ используют апротинин и ингибитор трипсина и химотрипсина из сои типа Баумана-Бирка (ББИ) [40, 47]. В ряде исследований применяли гликохолат и мезилат [48] и овомукоид [49, 50], а также совместное введение нескольких ингибиторов, например, апротинина и ББИ [51].

В работе [48] было показано, что никакой из вышеперечисленных ингибиторов не защищает *in vivo* полностью инсулин от воздействия протеаз тонкого кишечника. Однако другими авторами было показано, что одновременная доставка инсулина и апротинина способствовала сильному понижению уровня глюкозы в крови [37]. В этой же работе говорится о трудности применения ингибиторов для создания пероральной клинической формы инсулина, так как с учётом большого количества синтезируемого организмом человека трипсина, требуются очень большие количества апротинина.

НЕИНВАЗИВНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ИНСУЛИНА

В работе [46] были использованы инсулиновые микросферы из полиакрилового полимера, которые содержали различные ингибиторы: апротинин, ББИ, трипсиновый ингибитор из соевых бобов и химостатин. На крысах было показано, что *in vivo* наблюдалось заметное понижение уровня глюкозы в крови в случае использования апротинина и ББИ. В той же работе было установлено, что ингибиторы можно расположить в ряд по убыванию эффективности в понижении уровня глюкозы в крови: апротинин > ББИ > химостатин = трипсиновый ингибитор из сои.

В работе [50] инсулин включали в полиметакрилатные микрочастицы одновременно с куриным или утиным овомукоидом методом соосаждения. *In vitro* с обоими ингибиторами была продемонстрирована возможность защиты инсулина от воздействия протеолитических ферментов.

Большая часть исследований по увеличению биодоступности инсулина направлена на улучшение его абсорбции через кишечный эпителий. Молекулы инсулина плохо проникают через мембраны эпителиальных клеток кишечника по нескольким причинам, основной из которых является их гидрофильность. Эпителиальный слой кишечника состоит из тесно связанных между собой клеток, формирующих физический барьер для абсорбции (рис. 1), и слизистой оболочки [40], поэтому парацеллюлярный транспорт (см. 3 на рис. 1) в этом случае практически невозможен. Сверху эпителиального слоя находится гликокаликс (слой сульфированных мукополисахаридов) и слой слизи, состоящей из гликопротеинов, ферментов, электролитов и воды. Гликокаликс и слизь представляют ещё один барьер для транспорта инсулина. Существует 5 механизмов транспорта микро- и наночастиц через эпителий кишечника (рис. 1) [51, 52]:

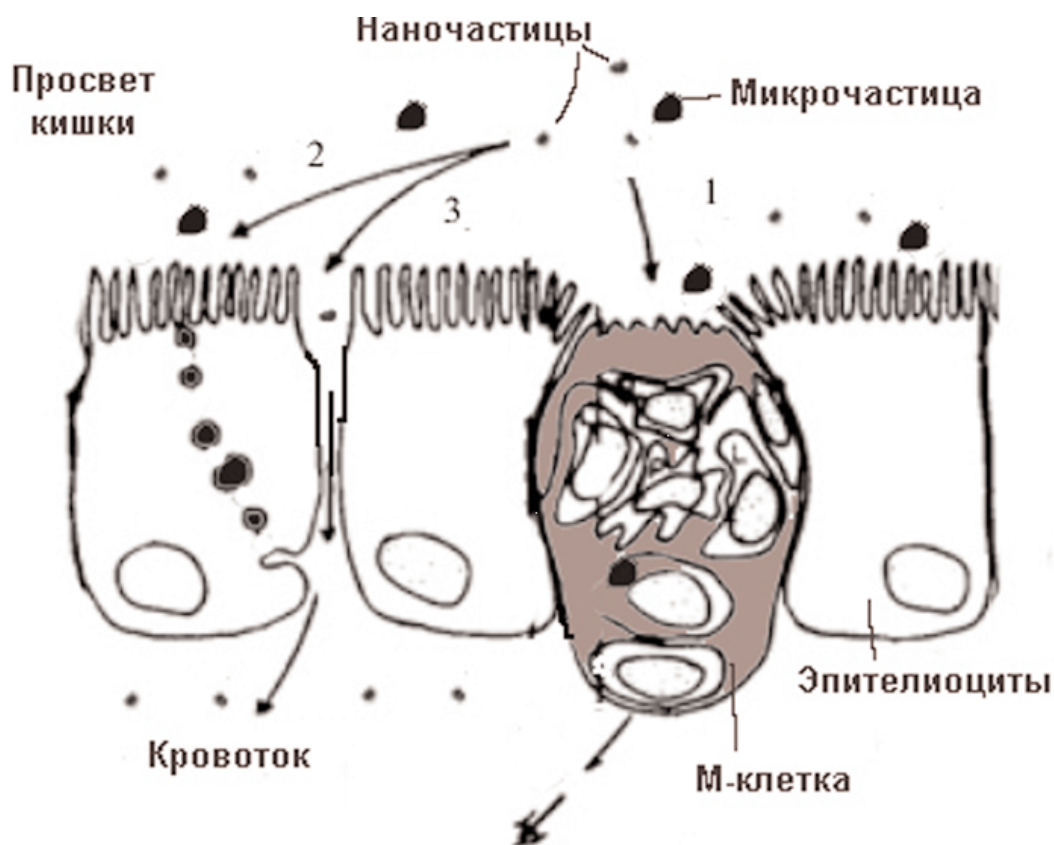


Рисунок.

Механизмы транспорта веществ через эпителий кишечника, по [55] с изменениями.

- 1 - захват М-клетками Пейеровых бляшек, 2 - трансцеллюлярный транспорт,
- 3 - парацеллюлярный транспорт.

- трансцеллюлярный (внутриклеточный) захват – очень маленькие частицы (обычно меньше 50 нм, но есть данные об абсорбции частиц размером до 200 нм) могут быть захвачены клетками путём эндоцитоза;
- парацеллюлярный захват – обычно в случае раскрытия плотных клеточных контактов в результате действия веществ, увеличивающих абсорбцию;
- фагоцитарный захват частиц кишечными макрофагами;
- лимфатический захват М-клетками Пейеровых бляшек – это самый распространённый путь; таким путём могут быть захвачены частицы микроразмеров. (Пейеровы бляшки – это агрегаты лимфоидных фолликулов, находящиеся в эпителии и состоящие из М-клеток и энтероцитов [52]);
- через пустоты между клетками эпителия, временно образующиеся при перистальтике – таким путём возможна абсорбция достаточно крупных частиц, но в очень небольших количествах.

Для увеличения абсорбции инсулина было использовано множество стратегий. В их числе одновременная доставка инсулина с веществами, увеличивающими его абсорбцию, включение инсулина в коллоидные системы доставки (липосомы, эмульсии, полимерные микро- и наносферы) [18].

Среди веществ, увеличивающих абсорбцию инсулина, были использованы детергенты, жирные кислоты, желчные соли [40, 47] и сапонины [39]. Несмотря на реальное увеличение абсорбции инсулина, этот метод непригоден для его пероральной доставки из-за повреждения эпителия и связанной с ним токсичности, поскольку все без исключения вещества, находящиеся в кишечнике, могут проникнуть в кровь, включая токсины и патогены [40].

Проведено большое количество исследований по разработке пероральной формы инсулина с его включением в микро- и нанокапсулы и частицы на различной основе. Были получены микро- и наночастицы на основе полифосфазена, декстрана [54], альгината [55], хитозана [56].

Главным преимуществом такого метода является возможность абсорбции инсулина без применения каких-либо веществ, увеличивающих абсорбцию, и органических растворителей и синтетических веществ. Известно, что наночастицы абсорбируются через эпителий кишечника и проникают в печень, где происходит деградация полимеров и высвобождение инсулина [18].

В некоторых случаях использование нанокапсул позволяет пролонгировать действие лекарства [51]. В работе [51] было показано, что адсорбция инсулина на поверхности наночастиц не защищает его от ферментативной деградации, однако включение инсулина внутрь нанокапсул поли(изобутилцианоакрилата) позволяет защитить белок.

В работе [57] на крысах был продемонстрирован пролонгированный гипогликемический эффект перорально введённых инсулин-содержащих микрочастиц на основе фосфата кальция, ПЭГ и казеина в течение 12 ч.

Наиболее перспективным для пероральной доставки белков в последнее время представляется их включение в микро- и наночастицы, состоящие из биodeградируемых полимеров, в частности, полиэлектролитов [58-64]. Наночастицы на основе таких биodeградируемых полиэлектролитов, как хитозан, альгинат, декстрансульфат являются оптимальными носителями для перорального инсулина [65].

В работе [55] альгинатные микросферы, содержащие инсулин, покрывали слоем хитозана для защиты инсулина от кислых значений pH желудка и для постепенного высвобождения инсулина при pH кишечника. Размер частиц составил 65-106 нм, и при pH 1,2 инсулин не высвобождался. В работе [66] было показано *in vitro*, что удастся пролонгировать высвобождение инсулина (до 24 ч) при его включении в микрочастицы из альгината и хитозана при pH 6,8 и 37°C. При этом те же авторы установили, что никаких значительных изменений во вторичной структуре инсулина при его капсулировании в такие микрочастицы не происходит [67].

Инсулин-содержащие наночастицы на основе хитозана и триполифосфата натрия размером 340 нм, введенные перорально крысам в дозе 20 Ед/кг, обеспечили небольшой, но продолжительный (48 ч) гипогликемический эффект [56]. Действие инсулина началось через час после введения. Аналогичные наночастицы в работе [68] при дозе 10 Ед/кг у крыс позволили достичь гипогликемического эффекта в течение 40 ч, причём частицы размером 350 нм демонстрировали более длительный эффект, чем частицы размером 1000 нм. Для последних длительность действия инсулина составила около 20 ч.

В работе [46] была продемонстрирована *in vivo* возможность пероральной доставки инсулина при помощи эмульсий вода-масло-вода (W/O/W). Внутренняя водная фаза таких эмульсий содержала инсулин и небольшое количество желатины; органическая часть состояла из лецитина, спэн 80, триацилглицерида; внешняя водная часть состояла из воды и небольшого количества твина-80.

В работе [69] была изучена возможность пероральной доставки инсулина в двойной W/O/W эмульсии, содержащей триацилглицериды каприловой кислоты и соевое масло. В *in vitro* модели был продемонстрирован эффект увеличения абсорбции инсулина, включенного в такую эмульсию, монослоем эпителиальных клеток кишечника Caco-2. Однако исследования *in vivo* не выявили никакого понижения уровня глюкозы в крови крыс.

Включение инсулина в микроэмульсии, содержащие циклодекстрины, позволяет избежать образования олигомеров гормона и тем самым улучшить его транспорт через эпителиальные клетки кишечника [70]. В исследованиях *in vitro* было показано, что при pH 7,4 инсулин высвобождался из капсул, полученных из эмульсии с гидроксипропилциклодекстрином, в 3 раза медленнее, чем из раствора, содержавшего те же компоненты.

Возможно комбинирование различных стратегий, например, добавление ингибитора протеаз в микроэмульсии с инсулином позволяет увеличить биодоступность последнего. Так, в работе [71] инсулин и аprotинин одновременно были включены в микроэмульсии “вода в масле”. При дозе 1 Ед/кг было достигнуто 66%-ное уменьшение уровня глюкозы в крови, такой же эффект наблюдался при введении инсулина подкожно в дозе 0,3 Ед/кг, т.е. биодоступность перорального инсулина составила 33 %.

Авторы работы [72] изучали стабильность инсулина *in vitro* в W/O/W микроэмульсии, состоящей из триглицеридов, аprotинина и таурохолата натрия (вещество, увеличивающее абсорбцию). Было показано, что при инкубации с отдельными протеолитическими ферментами (пепсином, трипсином, α -химотрипсином) протеолиза инсулина практически не происходило, однако инкубация с панкреатином в концентрации 2 мг/мл приводила к почти 100%-ной деградации инсулина. Однако, микроэмульсии не нашли широкого применения для разработок перорального инсулина из-за того, что в этом методе используются органические растворители и жёсткие условия капсулирования, что может привести к значительным потерям биологической активности инсулина.

Липосомы, представляющие собой замкнутые пузырьки водной фазы, окруженные одним или несколькими слоями липидов, привлекают к себе большой интерес в качестве носителей лекарственных средств по многим причинам. Во-первых, липосомы состоят из фосфолипидов, являющихся одним из основных компонентов клеточных мембран, поэтому они нетоксичны, биodeградируемы и могут обеспечивать внутриклеточную доставку их содержимого. Во-вторых, включение биологически активных веществ в липосомы позволяет увеличить эффективность препарата ввиду их защиты от воздействия ферментов. В-третьих, высвобождение лекарств из липосом происходит постепенно, тем самым достигается эффект пролонгированного действия [73].

В работе [46] инсулин был капсулирован в дипальмитоилфосфатидил-холин-холестериновые липосомы для предотвращения его ферментативной деградации. Были получены липосомы различных размеров от 0,1 до 1 мкм и показано,

что эффективность уменьшения уровня глюкозы в крови крыс возрастала с уменьшением радиуса липосом.

Разработка компании Emisphere Technologies – технология пероральной доставки лекарственных препаратов Eligen с применением специальных агентов доставки – на данный момент проходит вторую стадию клинических испытаний. Агенты доставки являются синтетическими веществами, которые образуют комплекс с белком и улучшают транспорт через эпителий кишечника путём пассивной трансцеллюлярной диффузии без раскрытия плотных клеточных контактов [38].

Ещё одна разработка – Intesulin компании Coremed – только начала проходить клинические испытания (таблица). Разработчики пока не освещают детали своих технологий; известно лишь, что Intesulin стабилен при комнатной температуре и не имеет побочных действий. Время действия Intesulin составляет около 8 ч, а необходимая доза – около 0,5 ЕД/кг [<http://www.coremedusa.com/n-2003-06-10.asp>]. В предклинических исследованиях биодоступность такого инсулина составляет около 16%. Кроме того оказалось, что абсорбция Intesulin была почти в 7 раз больше у диабетических крыс, чем у недиабетических [74].

Использование для пероральной доставки инсулина мукоадгезивных систем, способных удерживаться на слизистых оболочках, представляет большой интерес [75, 76]. Предполагают, что такие системы позволят достичь более длительного действия препарата и увеличить его абсорбцию путём более тесного контакта системы доставки с эпителием кишечника [75]. В качестве мукоадгезивных компонентов лекарственных форм опробованы такие полимеры, как хитозан, желатина, альгинат, производные целлюлозы, тиолированные полимеры [77].

В работе [76] в качестве мукоадгезивной системы используются биodeградируемые альгинатные микрочастицы, содержащие лектин, который обладает мукоадгезивными свойствами. *In vitro* было показано, что включение в микрочастицы лектина увеличивает биодоступность инсулина в 3 раза. *In vivo* при использовании микрочастиц с лектином удалось достичь большего понижения уровня глюкозы в крови крыс. В работе [75] инсулин в составе таблеток из тиобутиламида и хитозана действовал в течение 24 ч на крысах при дозе 250 ЕД/кг. В исследованиях *in vitro* включение инсулина в такие мукоадгезивные таблетки позволило увеличить время контакта с эпителием кишечника в десятки раз. В работе [78] инсулин, включенный в гель из карбоксиметилцеллюлозы с ингибитором ББИ, не деградировал *in vitro* в условиях, моделирующих содержимое тонкого кишечника человека.

Преимуществом подобного рода систем является возможность свести к минимуму нежелательное последствие введения ингибитора – расстройство пищеварения, т.к. инсулин и ингибитор будут высвобождаться одновременно и в определённом участке тонкого кишечника [47].

В Институте нефтехимического синтеза РАН разработали пероральный инсулин Рансулин, используя принципиально другой подход и комбинирование нескольких стратегий. Был сделан препарат на основе гидрогеля, содержащего инсулин и гликопротеин овомукоид [79]. От разрушения в желудке инсулин защищён полимерной капсулой. Гидрогель является сополимером акриламида с ненасыщенным производным глюкозы N-(2-D-глюкоз)-акриламидом. Такая сополимеризация позволяет создать систему, чувствительную к концентрации глюкозы – при концентрациях глюкозы выше пороговых гидрогель переходит в растворимое состояние, высвобождая гормон. Белковая часть овомукоида способна ингибировать протеолитические ферменты, а полисахаридная часть может взаимодействовать с лектинами – белками, содержащимися в слизистой оболочке кишечника [49]. Таким образом, гликопротеин выполняет двойную функцию: белковая часть защищает инсулин от протеолиза в кишечнике, а углеводный "хвостик" служит якорем для прикрепления к слизистой оболочке кишечника [49, 80].

При дозе Рансулина 8 Ед/кг гипогликемический эффект на кроликах наблюдался через 30 мин после приёма, действие длилось 1,5 ч [49]. Эффективность препарата зависит от размера частиц гидрогеля: чем меньше частицы, тем гипогликемическое действие сильнее. Минимально возможный размер частиц гидрогеля составлял около 50 мкм. В настоящее время Рансулин прошел предклинические испытания. Следует отметить, что серьёзным недостатком Рансулина является использование небiosoвместимого полиакриламидного геля, мономер которого является канцерогеном и может поражать нервную систему.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Несмотря на то, что в настоящий момент существует лишь одна разработка альтернативной формы инсулина, разрешённая для клинического применения, есть основания полагать, что через несколько лет на рынке появятся трансбуккальный и другие формы пульмонарного инсулина, которые, несомненно, составят серьёзную конкуренцию инъекционным препаратам гормона. Что касается создания наиболее желанной пероральной формы инсулина, то в этом случае ещё предстоит преодолеть большое количество препятствий, хотя существующие разработки развеивают мнение о нереальности создания инсулина в таблетках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чубенко А.Е. (2005) Интернет-журнал "Коммерческая биотехнология". "Популярная механика", **11**, <http://elementy.ru/lib/164611>
2. Stare A.A., Heinemann L. (1989) *Diabet. Med.*, **6**, 239-244.
3. Старостина Е.Г. (1998) В мире лекарств, **2**. <http://medi.ru/doc/7280212.htm>
4. Gymez-Perez F., Rull J.A. (2005) *Arch. Med. Res.*, **36**(3), 258-272.
5. McLeod K.M., Hepburn D.A.F., Frier B.M. (1993) *Diabet. Med.*, **10**, 238-245.
6. White J.R., Campbell R.K., Hirsch I. (1997) *Postgrad. Med.*, **101**(2), 58-70.
7. Burge M.R., Rassam A.G., Schade D.S. (1998) *Trends Endocrinol. Metab.*, **9**(8), 337-341.
8. Lindholm A., McEwen J., Riis A.P. (1999) *Diabetes Care*, **22**(5), 801-805.
9. Kurtzhals P. (1996) *J. Pharm. Sci.*, **85**, 304-308.
10. Markussen J., Havelund S., Kurtzhals P., Andersen A.S., Halstrom J. (1996) *Diabetologia*, **39**, 281-288.
11. Pieber T.R., Rank J., Goerzer E. (2002) *Diabetes*, **51**(2), A53.
12. Lindholm A. (2002) *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, **16**, 475-492.
13. Shechter Y., Mironchik M., Rubinraut S., Saul A., Tsubery H., Fridkin M. (2005) *Bioconjugate Chem.*, **16**(4), 913-920.
14. Harris J.M., Chess R.B. (2003) *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2**, 214-221.
15. Baudip M., Letourneur D., Liu F., Mix D., Jozefonvicz J., Kim S.W. (1998) *Bioconjugate Chem.*, **9**(2), 176-183.
16. Trehan A., Agsar A. (1998) *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **24**, 589-597.
17. Onuki Y., Morishita M., Takayama K., Tokiwa S., Chiba Y., Isowa K., Nagai T. (2000) *Int. J. Pharm.*, **198**, 147-156.
18. Owens D.R., Zinman B., Bolli G. (2003) *Diabet. Med.*, **20**, 886-898.
19. Redding B.K., Roy R.B., Yom M., Stankus A. (2003) <http://www.encsys.com/articles/AnimalTrialPaper.pdf>
20. Севастьянов В.И., Саломатина Л.А., Тухобаева А.А., Собко О.М., Урьяш В.Ф. (2004) Перспективные материалы, **1**, 46-53.
21. Raz I., Dubinsky A., Kidron M., Wainstein J. (2005) American Diabetes Association, 65th Annual Meeting & Scientific Sessions, San Diego, USA. http://www.generex.com/abstracts/ADA_Type2_Orally.pdf
22. Tirucherai G.S., Pezron I., Mitra A.K. (2002) *S.T.P. Pharm. Sci.*, **12**, 3-12.
23. Illum L. (1999) in: *Bioadhesive Drug Delivery Systems* (Mathiowitz E., Chickering III D.E., Lehr C.-M. eds.). Marcel Dekker, New York, 507-535.

24. Pontiroli A.E. (1992) in: *Buccal and Nasal Administration as an Alternative to Parenteral Administration* (D. Duchkne ed.), Editions de Santй, Paris, 226-237.
25. Lee V.H.L., Yamamoto A., Kompella U.B. (1991) *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **8**, 91-192.
26. Hinchcliffe M., Illum L. (1999) *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **35**, 199-234.
27. Dodane V., Khan M.A., Mervin J.R. (1999) *Int. J. Pharm.*, **182**(1), 21-32.
28. Merkus F.W.H.M., Schipper N.G.M., Verhoef J.C. (1996) *J. Control. Release*, **41**(1-2), 69-75.
29. Maggi L., Bruni R., Conte U. (1999) *Int. J. Pharm.*, **177**, 83-91.
30. Gonda I., Schuster J.A., Rubsamen R.M., Lloyd P., Cipolla D., Farr S.J. (1998) *J. Control. Release*, **53**, 269-274.
31. Henry R.R., Mudaliar S.R.D., Howland III W.C., Chu N., Kim D., An B., Reinhardt R.R. (2003) *Diabetes Care*, **26**, 764-769.
32. Schuster J., Rubsamen R., Lloyd P., Lloyd J. (1997) *Pharm. Res.*, **14**(3), 354-357.
33. Garg S., Rosenstock J., Silverman B.L., Sun B., Konkoy C.S., Peca A., Munchmore D.B. (2006) *Diabetologia*, **49**(5), 891-899.
34. Pfitzner A., Mann A., Steiner S. (2002) *Diabetes Technol. Ther.*, **4**, 589-593.
35. Шмидт П., Тевс Г. (1996) *Физиология человека*, Мир, М.
36. Марру Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. (1993) *Биохимия человека*, Т.2, Мир, М.
37. Woodley J.F. (1994) *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **11**(2-3), 61-95.
38. Shankar B. (2007) *Oral Drug Delivery*, **1**, 20-21. www.ondrugdelivery.com
39. Davis S.S. (1993) *Journees Galeniques*, **86**, 9-14.
40. Carino G.P., Mathiowitz E. (1999) *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **35**, 249-257.
41. Clement S., Still J.G., Kosutic G., McAllister R.G. (2002) *Diabetes Technol. Ther.*, **4**(4), 459-466.
42. Lowman A.M., Morishita M., Kajita M., Nagai T., Peppas N.A. (1999) *J. Pharm. Sci.*, **88**(9), 933-937.
43. Morishita M., Goto T., Takayama K., Peppas N.A. (2006) *J. Drug Del. Sci. Tech.*, **16**(1), 19-24.
44. Chen S.-C., Wu Y.-C., Mi F.-L., Lin Y.-H., Yu L.-C., Sung H.-W. (2004) *J. Control. Release*, **96**, 285-300.
45. Schilling R.J., Mitra A.K. (1991) *Pharm. Res.*, **8**(6), 721-727.
46. Nagai T., Morishita M., Maitani Y. (1996) *Recent Adv. in Peptide and Protein Delivery*, 8th Int. Pharm. Tech. Symp., Ankara, 45-57.
47. Ghilzai N.M.K. (2006) *Pharmaceutical Technology*. <http://www.pharmtech.com/pharmtech/article/articleDetail.jsp?id=316165>.
48. Yamamoto A., Taniguchi T., Rikyuu K., Tsuji T., Fujita T., Murakami M., Muranishiet S. (1994) *Pharm. Res.*, **11**, 1496-1500.
49. Валуев И.Л., Сытов Г.А., Валуев Л.И., Валуева Т.А., Ульянова М.В., Платэ Н.А. (2001) *Вопр. мед. химии*, **47**(1), 132-137.
50. Agarwal V., Reddy I.K., Khan M.A. (2001) *Int. J. Pharm.*, **225**(1-2), 31-39.
51. Ponchel G., Irache J. (1998) *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **34**, 191-219.
52. Kolac C., Streichhan P., Lehr C.-M. (1996) *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **42**(4), 222-232.
53. Florence A.T. (1997) *Pharmaceutical Research*, **14**(3), 259-266.
54. Kumar M.N.V.R. (2000) *J. Pharm. Pharm. Sci.*, **3**(2), 234-258.
55. Silva C.M., Ribeiro A.J., Ferreira D., Veiga F. (2006) *Eur. J. Pharm. Sci.*, **29**(2), 148-159.
56. Cui F., Zhang L., Zheng J., Kawashima Y. (2004) *J. Drug Del. Sci. Tech.*, **14**(6), 435-439.
57. Morçöl T., Nagappan P., Nerenbaum L., Mitchell A., Bell S.J.D. (2004) *Int. J. Pharm.*, **227**(1-2), 91-97.
58. Balabushevitch N.G., Sukhorukov G.B., Moroz N.A., Larionova N.I., Volodkin D.V., Donath E., Mohwald H. (2001) *Biotechnol. Bioeng.* **76**(3), 207-213.

59. *Volodkin D.V., Balabushevitch N.G., Sukhorukov G.B., Larionova N.I.* (2003) STP Pharm. Sci., **13**(3), 163-170.
60. *Balabushevich N.G., Sukhorukov G.B., Larionova N.I.* (2003) XI Int. BRG Workshop on Bioencapsulation, Illkirch, France, 20.
61. *Балабушевич Н.Г., Ларионова Н.И.* (2004) Биохимия, **69**(7), 930-936.
62. *Larionova N., Balabushevich N.* (2004) Eur. Conf. Drug Delivery and Pharmaceutical Tecnology, Sevilla, Spain, 131.
63. *Larionova N., Shchelokova O., Balabushevich N.* (2005) Pharmaceutical Sciences Fair & Exhibition, Nice, France, 234.
64. *Balabushevich N.G., Lebedeva O.V., Vinogradova O.I., Larionova N.I.* (2006) J. Drug Delivery Sci. Tech., **16**(4), 315-319.
65. *Sarmento B., Martins S., Ribeiro A., Veiga F., Neufeld R., Ferreira D.* (2006) Int. J. Peptide Research and Therapeutics, **12**(2), 131-138.
66. *Sarmento B., Ribeiro A.J., Veiga F., Ferreira D.C., Neufeld R.* (2007) J. Nanosci. Nanotechnol., **7**, 1-9.
67. *Sarmento B., Ferreira D.C., Jorgensen L., Weert M.* (2007) Eur. J. Pharm. Biopharm., **65**, 10-17.
68. *Pan Y., Zheng J.-M., Zhao H.-Y., Li Y.-J., Xu H.* (2002) Acta Pharmacol. Sin., **23**(11), 1051-1056.
69. *Shima M., Tanaka M., Fujii T., Egawa K., Kimura Y., Adachi S., Matsuno R.* (2006) Food Hydrocolloids, **20**(4), 523-531.
70. *Santiago R.M., Fialho S.L., Silva-Cunha A.* (2003) STP Pharm. Sci., **13**(6), 377-380.
71. *Cho Y.W., Flynn M.* (1989) Lancet, **2**, 1518-1519.
72. *Silva-Cunha A., Grossiord J.L., Puisieux F., Seiller M.* (1997) Int. J. Pharm., **158**, 79-89.
73. *Дудниченко А.С., Краснопольский Ю.М., Швец В.И.* (2001) Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике, Ра-Каравелла, Харьков.
74. *Leung F.K., Li J., Huang L., Leung E.* (2001) American Diabetes Association 61st Scientific Sessions. <http://www.coremedusa.com/abs-2001ada.asp>
75. *Marschutz M.K., Bernkop-Schnьrch A.* (2000) Biomaterials, **21**, 1499-1507.
76. *Krauland A.H., Guggi D., Bernkop-Schnьrch A.* (2004) J. Control. Release, **95**, 547-555.
77. *Salamat-Miller N., Chittchang M., Johnson T.P.* (2005) Adv. Drug Del. Rev., **57**, 1666-1691.
78. *Kim B.-Y., Jeong J. H., Park K., Kim J.-D.* (2005) J. Control. Release, **102**(3), 525-538.
79. *Платэ Н.А., Валуев Л.И., Княжев В.А.* (2001) Вестник РАН, **71**(10), 899-914.
80. *Валуев Л.И., Валуева Т.А., Валуев И.Л., Платэ Н.А.* (2003) Усп. биол. химии, **43**, 307-328.

Поступила: 03. 07. 2007.

NONINVASIVE INSULIN DELIVERY SYSTEMS

D.K. Zubaerova, N.I. Larionova

Lomonosov Moscow State University, School of Chemistry, Moscow, 119992 Russia;
tel.: +7(495)9393417; fax: +7(495)9395417; e-mail: nilar@enzyme.chem.msu.ru

The review considers commercial insulin formulations. Special attention is paid to the difficulties and strategies of development of alternative hormone delivery systems (buccal, transdermal, intranasal, pulmonary and oral). At the moment there is only one approved formulation of the noninvasive insulin in the world.

Key words: insulin, formulations, delivery systems, pulmonary insulin, buccal insulin, oral insulin.