

NANOPARTICULE ȘI MICROPARTICULE ÎN CHIMIOTERAPIA TUBERCULOZEI

Dr. **Veaceslav BOLDESCU***
Universitatea de Stat din Moldova

NANOPARTICLES AND MICROPARTICLES IN THE TUBERCULOSIS CHEMOTHERAPY

Tuberculosis is one of the deadliest infectious diseases in the world. *Mycobacterium tuberculosis*, causing the disease, has become one of the most resistant pathogens with more and more strains being multi drug- or extensively drug-resistant. This article is dedicated to the potential use of nano- and micro-particles loaded with antituberculous substances for the treatment of lung tuberculosis, the most common form of the infection. It also brings up the most important results obtained by the author and his collaborators in this field during the last 2 years.

Tuberculoza reprezintă o maladie infecțioasă provocată de *Mycobacterium tuberculosis*. De obicei, maladia afectează plămâni (Fig. 1), dar poate afecta și alte părți ale corpului (creier, oase, rinichi ș.a) [1]. După estimările OMS, tuberculoza se înscrie în topul celor mai dezastruoase boli împreună cu malaria și HIV, infecții noi apărând cu o rată de 1 per secundă, astfel înregistrându-se anual 8-9 milioane de noi cazuri de îmbolnăvire. Potrivit aceluiași estimări, tuberculoza aduce pe an circa 1,5 milioane de morți [2].

Conform datelor Biroului Național de Statistică, în 2010, în Republica Moldova au fost înregistrate, în total, 5 183 cazuri de tuberculoză (4 895 în anul 2008), 127 dintre ele la copii cu vârsta de până la 14 ani [3]. Raioanele Strășeni, Leova, Soroca, Călărăși, Dubăsari, Ialoveni și Criuleni, precum și orașele Chișinău și Bălți au înregistrat cel mai înalt nivel de morbiditate condiționată de bacilii tuberculozei. Pe parcursul anului 2010, în Moldova au decedat din cauza tuberculozei 747 persoane [3]. Această situație epidemiologică este favorizată, în special, de criza social-economică din țară pentru că boala afectează, de cele mai multe ori, persoanele din păturile social-vulnerabile. De asemenea, la creșterea numărului bolnavilor de tuberculoză

* Dr. Veaceslav Boldescu a fost distins cu premiul „Tânărul Savant al anului 2012”, pentru ciclul de lucrări „Noi compuși cu proprietăți antimicobacteriene”.

contribuie migrația masivă a populației, creându-se astfel premise și pentru schimbarea formelor clinice de tuberculoză pulmonară. În acest context, controlul tuberculozei rămâne în continuare o prioritate națională și mondială.

Principalele probleme determinate la nivel global și național în tratamentul tuberculozei sunt:

- durată lungă a tratamentului, care constituie 6-8 luni pentru infecția cu *M. tuberculosis* sensibilă la antituberculoase de prima linie (INH, RIF);
- toxicitatea avansată a majorității preparatelor antituberculoase existente;
- necesitatea administrării mai multor remedii concomitent;
- caracteristicile organoleptice neplăcute ale acestora care, deseori, cauzează refuzul pacienților la tratament [2].

Toate acestea, laolaltă cu biodisponibilitatea redusă și puritatea enantiomerică insuficientă a remediilor antituberculoase utilizate în prezent, sunt principalele cauze ale dezvoltării formelor de tuberculoză rezistentă (DRTB), multirezistentă (MDRTB) și cu rezistență extinsă (XDRTB).

Așadar, există de mult timp necesitatea obținerii noilor remedii antituberculoase cu proprietăți avansate:

- activitate și eficacitate sporită (inclusiv contra micobacteriilor multirezistente și cu rezistență);
- solubilitate bună și biodisponibilitate crescută;
- toxicitate mai scăzută comparativ cu cele utilizate la momentul actual;
- realizarea unor concentrații mai mari la nivelul macrofagilor alveolari în care rezidă micobacteriile;
- administrare mai confortabilă pentru pacient.

Una dintre posibilitățile pentru realizarea acestor cerințe față de un remediu tuberculos este obținerea formelor nano- și microparticulate pentru administrare prin inhalare.

Nebulizarea antibioticelor a fost propusă pentru tratamentul formelor acute de tuberculoză de către Sacks et al. [4]. S-a demonstrat că antibioticele inhibă creșterea micobacteriilor în cavități purulente și transmiterea infecției, însă nu a fost evidențiată inhibarea bacteriilor aflate în interiorul macrofagelor.

Un alt grup de cercetători a demonstrat că administrarea interferonului- γ sub formă de aerosol timp de o lună induce reducerea numărului de micobacterii la nivel intra-cavitațional, dar nu ucide, totuși, toate bacteriile, iar rezultatul obținut nu este unul durabil [5]. Numai administrarea timp de 6 luni a

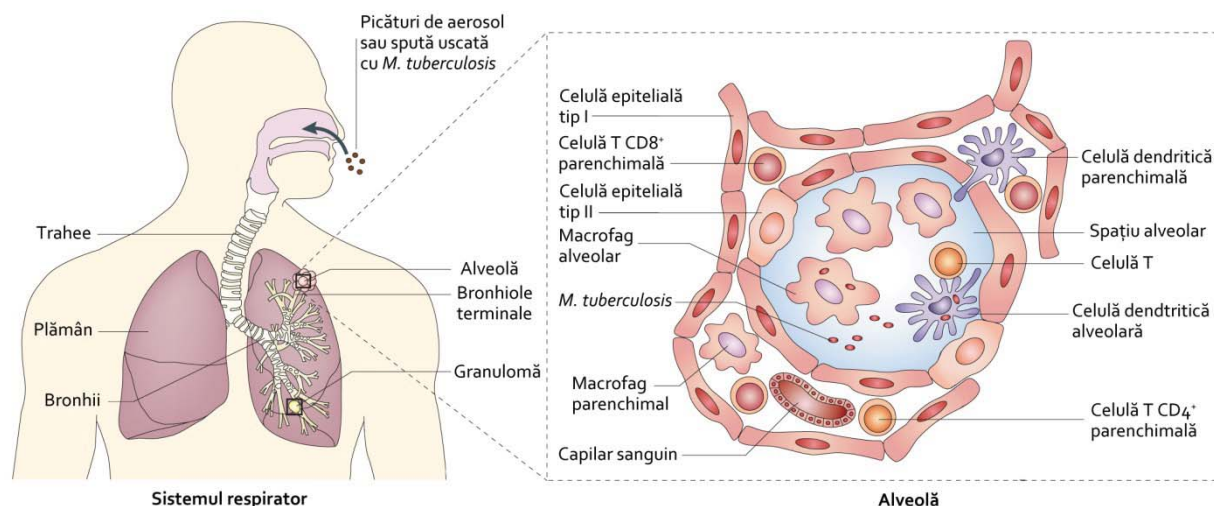


Figura 1. Infecția pulmonară cu *M. tuberculosis*

duș la rezultate pozitive confirmate de mai multe tipuri de analize.

Astfel, s-a evidențiat că aerosolizarea sau nebulizarea obișnuită a substanțelor cu proprietăți antimicobacteriene nu este o formă eficientă și convenabilă de tratament a tuberculozei. Pentru combaterea mai eficientă a bolii, substanțele medicamentoase trebuie administrate sub diferite forme farmaceutice, care vor fi captate rapid de macrofagii infectați cu micobacterii. Din acest punct de vedere, nano- și microparticulele pot fi niște forme eficiente. Datele obținute de diferiți cercetători au demonstrat o eficiență înaltă a acestor forme în tratamentul tuberculozei la animalele de laborator.

Astfel, administrarea lipozomilor încărcăți cu rifampicină și izoniazidă a dus la creșterea de 2 ori a timpului de înjumătățire a acestor substanțe în organism [6]. De asemenea, ambele substanțe pot fi identificate în plămâni și în macrofagi în 5 zile după administrarea lipozomilor, ceea ce indică lipsa necesității de administrare zilnică a acestora. Rezultate asemănătoare au fost obținute pentru lipozomii încărcăți cu diferite substanțe antimicobacteriene și de alți cercetători [7, 8].

O specificitate mai înaltă de acțiune și, ca rezultat, o eficiență mai înaltă au demonstrat lipozomii acoperiți cu diferiți liganzi cu afinitate înaltă față de macrofagii alveolari – O-sterail amilopectină și albumină maleilată din plasma bovină [9].

Odată cu creșterea utilizării polimerilor biodegradabili în transportul substanțelor medicamentoase la țintă, o atenție sporită a fost acordată sistemelor polimerice de transport a substanțelor antituberculoase. Aceste sisteme se obțin din diferiți

polimeri hidrosolubili. Cei mai utilizați sunt PLGA (copolimerul acizilor lactic și glicolic), chitozanul și alginatii [10].

Nano- și microsistemele polimerice de transport al substanțelor antituberculoase au demonstrat o eficiență înaltă în studiile *in vitro* și o capacitate înaltă de încărcare cu substanțe medicamentoase [11-14].

Fezabilitatea și beneficiile utilizării nano- și microparticulelor pentru administrarea substanțelor medicamentoase sub formă de aerosol în cadrul diferitor boli pulmonare au fost demonstrate de mai mulți autori [15-17].

Principalele avantaje ale administrării pulmonare a nano- și microparticulelor sunt:

- ✓ raportul înalt suprafața/volumul particulei [16], ceea ce determină creșterea solubilității substanței;
- ✓ creșterea pragului solubilității cu diminuarea dimensiunilor particulelor, ceea ce duce la creșterea biodisponibilității substanțelor medicamentoase;
- ✓ cedarea prelungită a substanțelor active din nanoparticule biodegradabile. În studiile pe animalele de laborator, concentrațiile plasmatice ale antituberculoaselor administrate pe diferite căi sub formă de nanoparticule din PLGA au rămas la nivel mai înalt decât concentrația minimă de inhibiție timp de până la 12 zile [17]. Administrarea orală la cobai a 3 doze de nanoparticule din PLGA, încărcate cu RIF și NIH, a dat același nivel de protecție contra *M. tuberculosis* ca și 45 doze zilnice de antibiotice [17].
- ✓ potențialul înalt de pătrundere a particulelor la nivelul intracelular, mai ales în cazul macrofagilor, cu creșterea activității macrofagiale și a potenți-

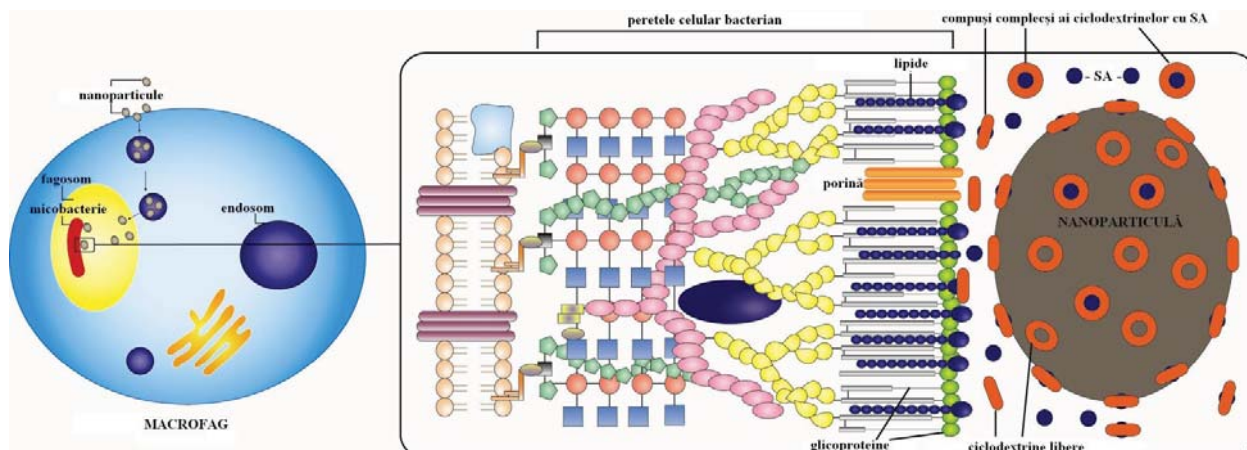


Figura 2. Interacțiunea nanoparticulei încărcate cu ciclodextrine și substanțe antituberculoase cu peretele celular al micobacteriilor

alului de transport la nivelul extrapulmonar în interiorul macrofagului [18];

✓ posibilitatea de a menține concentrația substanței în focarul infecției la un nivel ridicat și un timp mai îndelungat, ceea ce reduce frecvența administrării remediei [19]. Experimentele *in vitro* au demonstrat concentrarea substanțelor antituberculoase administrate inhalator cu nanoparticule la nivelul intracelular al macrofagelor în concentrații de 20 de ori mai mari decât cele extracelulare [20, 21].

Principalele probleme legate de administrarea nano- și microparticulelor pentru inhalare sunt pierderea remediei la exhalare sau inhalare și limitele dimensionale pentru particule care pot fi captate de macrofagi. Problema dată poate fi rezolvată prin obținerea particulelor cu diametru 500 – 900 nm. La diametrul particulelor < 500 nm se observă o pierdere înaltă la exhalare, iar în cazul diametrului > 5000 nm o mare parte de microparticule se rețin la nivel faringian și nu ajung la locul acțiunii [22]. În același timp, se cunoaște că macrofagii alveolari pot să capteze particulele cu dimensiuni de la ~ 200 nm până la ~ 10 μm [23].

Pentru a îmbunătăți pătrunderea substanțelor antituberculoase din nano- și microparticule în fagosomii și micobacteriile din interiorul lor am propus utilizarea ciclodextrinelor în calitate de promotori (Fig. 2) [24].

Proprietatea ciclodextrinelor de a forma compuși complecși cu diferite substanțe endogene, printre acestea numărându-se colesterolul și lipidele din componența membranelor celulare, este bine cunoscută [25]. În cazul celulelor *M. tuberculosis*, ciclodextrinele pot extrage colesterolul depozitat în peretele celular al micobacteriilor, dezorganizând stratul lipidic de protecție și crescând permeabili-

tatea acestuia pentru diferite substanțe antituberculoase [26, 27].

Avantajul utilizării ciclodextrinelor constă în creșterea stabilității, solubilității și biodisponibilității substanțelor medicamentoase asociate cu acestea.

Cu scopul îmbunătățirii pătrunderii intracelulare și creșterii stabilității, în colaborare cu Institutul de Chimie al AȘM și Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare din Cluj-Napoca, România, am obținut și am caracterizat compuși complecși ai β -ciclodextrinei cu o substanță cu proprietăți antituberculoase (Fig. 3) confirmate în experimente *in vitro* [28].

Un nou proiect dedicat acestei tematici a fost lansat la Institutul de Chimie, AȘM, sub conducerea

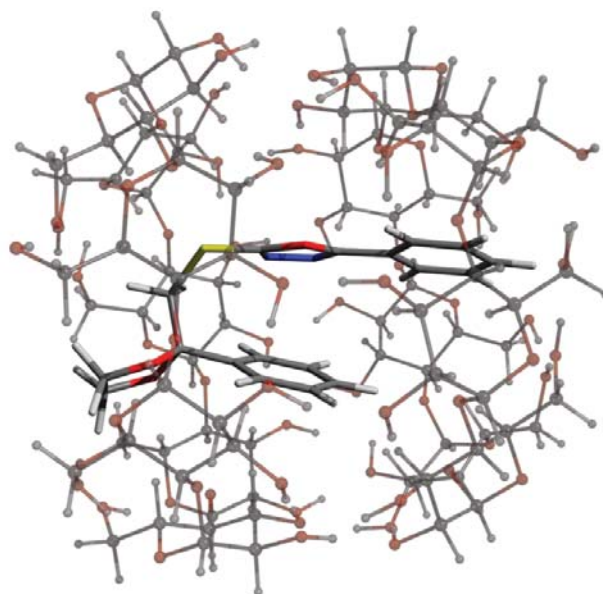


Figura 3. Structura compusului complex DIOX- β -ciclodextrină [28]

dr. hab. Fliur Macaev. Acesta se va axa pe nano-încapsularea diferitor substanțe cu proprietăți anti-tuberculoase în ciclodextrine și, ulterior, în micro-particule.

Autorul articolului își exprimă mulțumirile pentru susținerea parțială a acestei lucrări de către fondul STCU, proiectul #5800.

Bibliografie

1. Konstantinos A. „Testing for tuberculosis”. În: *Australian Prescriber*. 2010, 33 (1), 12-18.
2. WHO Global Tuberculosis Control Report 2012, Geneva, 2012, 100. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/ Accesat:24.02.2013.
3. Biroul Național de Statistică. Morbiditatea populației prin tuberculoza activă pe sexe și grupe de vârstă, 2000-2010. <http://www.statistica.md/> Accesat: 24.02.2013.
4. Sacks L. V., Pendle S., Orlovic D. et al. Adjunctive salvage therapy with inhaled aminoglycosides for patients with persistent smear positive pulmonary tuberculosis. În: *Clin. Infect. Dis.* 2001, 32, 44-49.
5. Condos R., Rom W. N., Schluger N. W. Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon-g via aerosol. În: *Lancet*. 1997, 349, 1513-5.
6. Pandey, R., Sharma, S. & Khuller, G. K. Nebulization of liposome encapsulated antitubercular drugs in guinea pigs. În: *Int. J. Antimicrob. Ag.* 2004, 24, 93-94.
7. Justo O. R., Moraes, A. M. Incorporation of antibiotics in liposomes designed for tuberculosis therapy by inhalation. În: *Drug Delivery*. 2003, 10, 201-207.
8. Kurunov I. N., Ursov, I. G., Krasnov, V. A. et al. Effectiveness of liposomal antibacterial drugs in the inhalation therapy of experimental tuberculosis. În: *Problemy Tuberkuleza*. 1995, 1, 38-40.
9. Vyas S. P., Kannan, M. E., Jain, S. et al. Design of liposomal aerosol for improved delivery of rifampicin to alveolar macrophages. În: *Int. J. Pharm.* 2004, 269, 37-49.
10. Couvreur P., Vauthier C. Nanotechnology: intelligent design to treat complex disease. În: *Pharm. Res.* 2006, 23, 1417-1450.
11. Sethuraman V.V., Hickey, A.J. Powder properties and their influence on dry powder inhaler delivery of an antitubercular drug. În: *AAPS PharmSciTech*. 2002, 3, E28.
12. Sharma R., Saxena, D., Dwivedi, A. K. et al. Inhalable microparticles containing drug combinations to target alveolar macrophages for treatment of pulmonary tuberculosis. În: *Pharm. Res.* 2001, 18, 1405-10.
13. Ahmad Z., Pandey R., Sharma S., Khuller G.K. Alginate nanoparticles as antituberculosis drug carriers: formulation development, pharmacokinetics and therapeutic potential. În: *The Indian Journal of Chest Diseases&Allied Sciences*. 2006, vol. 48., p. 171-176.
14. Pandey R., Khuller G.K. Chemotherapeutic potential of alginate-chitosan microspheres as antitubercular drug carriers. În: *J. Antimicrob. Chemoth.* 2004, vol. 53, p. 635-640.
15. Labiris N.R., Dolovich M.B. Pulmonary drug delivery. Part II: The role of inhalant delivery devices and drug formulations in therapeutic effectiveness of aerosolized medications. În: *Brit. J. Clin. Pharm.* 2003, 56, 600-612.
16. Sung J.C., Pulliam B.L., Edwards D.A. Nanoparticles for drug delivery to the lungs. În: *Trends in Biotechnology*. 2007, vol. 25, no. 12, p. 563-570.
17. Sharma, A., Sharma, S. & Khuller, G. K. Lectin-functionalized poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles as oral/aerosolized antitubercular drug carriers for treatment of tuberculosis. În: *J. Antimicrob. Chemother.* 2004, 54, 761-766.
18. Bailey M.M., Berklund C.J. Nanoparticle formulations in pulmonary drug delivery. În: *Med. Res. Rev.* 2009, 29 (1), 196-212.
19. Pandey R., Khuller G.K. Antitubercular inhaled therapy: opportunities, progress and challenges. În: *J. Antimicrob. Chemoth.* 2005, vol. 55, p. 430-435.
20. Sosnik, A., Carcaboso, A. M., Glisoni, R. J., Moretton, M. A., Chiappetta, D. A. New old challenges in tuberculosis: potentially effective nanotechnologies in drug delivery. În: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010, 62, 547-559.
21. Kisich, K. O. et al. Encapsulation of moxifloxacin within poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles enhances efficacy against intracellular *Mycobacterium tuberculosis*. *Int. J. Pharm.* 2007, 345, 154-162.
22. Lipworth B.J. Targets for inhaled treatment. În: *Respiratory Medicine*. 2000, 94, suppl. D, S13 - S16.
23. Desjardins, M., Griffiths, G. Phagocytosis: latex leads the way. În: *Curr. Opin. Cell Biol.* 2003, 15, 498-503.
24. Boldescu V. Sistem microparticulat de transport al remediile antituberculoase. Cerere de brevet, a 20120053 din 14.06.2012.
25. Duca Gh., Ivancic A., Boldescu V. Cyclodextrins: fields of application. Part II. În: *Chemistry Journal of Moldova*. 2012, 7 (2), 39-45.
26. Brzostek A., Pawelczyk J., Rumijowska-Galewicz A., Dziadek B., Dziadek J. *Mycobacterium tuberculosis* is able to accumulate and utilize cholesterol. În: *Journal of Bacteriology*. 2009, 191 (21), 6584-6591.
27. Donova M.N., Nikolayeva V.M., Dovbnya D.V. et al. Methyl- β -cyclodextrin alters growth, activity and cell envelope features of sterol-transforming. În: *Mycobacteria. Microbiology*. 2007, 153, 1981-1992.
28. Boldescu V., Bratu I., Borodi Gh., Kacso I., Bende A., Duca Gh., Macaev F., Pogrebnoi S., Ribkovskaia Z. Study of binary systems of beta-cyclodextrin with a highly potential anti-mycobacterial drug candidate. În: *J. Incl. Phenom. Macro.*, 2012, 74, 129-135.